

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК» (ИЦиГ СО РАН)

УДК 575.133:582.542.1(047.31)

№ госрегистрации АААА-А17-117110270090-3

Инв. №

«УТВЕРЖДАЮ»
директор ИЦиГ СО РАН
доктор биологических наук
академик



Н.А. Колчанов

28.12.2017

ОТЧЕТ
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

Программа фундаментальных научных исследований
государственных академий наук на 2013–2020 годы

148. Растениеводство

ИНВЕНТАРИЗАЦИЯ И РАЗВИТИЕ КОЛЛЕКЦИИ «ГенАгро»
(заключительный)

Номер проекта в ИСГЗ ФАНО 0324-2017-0001

Протокол Ученого совета
№ 23 от 25.12.2017 г.

Научный руководитель
заместитель директора,
доктор биологических наук,
член-корреспондент РАН

 27.12.17

подпись, дата

А.В. Кочетов

Новосибирск – 2017

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель проекта
зам. директора, д-р биол.
наук, чл.-кор. РАН

AK

27.12.17

подпись, дата

А.В. Кочетов

Исполнители проекта

гл.н.с., д-р биол. наук,
проф. РАН

KL

27.12.17

подпись, дата

Е.К. Хлесткина

в.н.с., канд. биол. наук

Афон

27.12.17

подпись, дата

Д.А. Афонников

в.н.с., канд. сел.-хоз.
наук

Полух

27.12.17

подпись, дата

Н.И. Полухин

с.н.с., канд. хим. наук

Хлест

27.12.17

подпись, дата

В.К. Хлесткин

с.н.с.

Мыз

27.12.17

подпись, дата

Г.Х. Мызгина

с.н.с.

Сафо

27.12.17

подпись, дата

А.Д. Сафонова

н.с., канд. биол. наук

Доро

27.12.17

подпись, дата

А.В. Дорошков

н.с., канд. биол. наук

Гена

27.12.17

подпись, дата

М.А. Генаев

м.н.с.

Ком

27.12.17

подпись, дата

Е.Г. Комышев

м.н.с.

Стры

27.12.17

подпись, дата

К.В. Стрыгина

вед. инж., канд. биол.
наук

Тощ

27.12.17

подпись, дата

И.В. Тощкий

вед. инж.

Семен

27.12.17

подпись, дата

С.А. Семенова

нормоконтролер

Чалко

27.12.2017

подпись, дата

Т.Ф. Чалкова

РЕФЕРАТ

Отчет 161 с., 1 ч., 17 рис., 47 табл., 6 источников, 18 прил.

IN VITRO КОЛЛЕКЦИЯ, *SOLANUM TUBEROSUM*, КАРТОФЕЛЬ, КОЛЛЕКЦИЯ, МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЕ МАРКЁРЫ, РАСТЕНИЯ, ПАСПОРТИЗАЦИЯ, СТАНДАРТНЫЕ ОПЕРАЦИОННЫЕ ПРОЦЕДУРЫ

Объект исследования – коллекция сортов и гибридов картофеля ИЦиГ СО РАН («ГенАгро»).

Цель работы – инвентаризация и развитие коллекции «ГенАгро» с использованием современных методов паспортизации, высокопроизводительного фенотипирования и информационных технологий.

Результаты. В рамках выполнения государственного задания были проведены следующие работы:

1) Создан технологический паспорт коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН, содержащий: а) описание полного набора ключевых стандартных операционных процедур (СОП), обеспечивающих развитие и поддержание коллекционного фонда коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН; б) Осуществлено научно-техническое обоснование смет стандартных операционных процедур коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН. 2) подготовлена документация по технологическому паспорту коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН, размещенная на интернет-сайте коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН. 3) Получены и оцифрованы данные эколого-географического испытания (ЭГИ) по 50 сортам и гибридам картофеля в 2017 г. на территории Новосибирской области; произведена статистическая обработка данных. 4) Получены идентификационные паспорта для 20 сортов и гибридов на основе СОП по паспортизации с использованием микросателлитных маркёров. 5) Получены и обработаны данные по морфологии гранул крахмала 20 сортов и гибридов. 6) Получены и обработаны данные по основным признакам клубня 20 сортов и гибридов с использованием разработанного метода анализа цифровых изображений. 7) Произведена запись результатов верификации СОПов в электронной базе коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН. 8) В электронную базу коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН внесены данные по ЭГИ-2017; разработан интерфейс для графической визуализации полученных данных; база данных электронного ресурса дополнена описанием 50 образцов. 9) коллекция пополнена 15 новыми образцами для проведения геномных исследований; произведены вычленение меристем данных образцов и засев в культуральную среду. 10) Подготовлены и направлены в печать в рецензируемый журнал (Scopus/WoS) 2 статьи на основе материалов коллекции, одна из них уже опубликована. 11) Составлен календарный план работ по выполнению дополнительного государственного задания. 12) Отчет о проделанной работе в рамках дополнительного государственного задания размещен на интернет-сайте коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН с указанием ссылки на номер заключенного с ФАНО России соглашения на выполнение дополнительного государственного задания. Прогнозные предположения о развитии объекта исследования: в дальнейшем планируются работы по поддержанию коллекции, расширению фондов и оказание услуг по запросам.

СОДЕРЖАНИЕ

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	7
ВВЕДЕНИЕ	8
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ	11
1 Общая информация о коллекции	—
2 Краткая информация о проделанной работе в рамках дополнительного государственного задания	12
3 Регистрация в государственных информационных системах и финансирование	—
4 Результаты, полученные в рамках дополнительного государственного задания	—
4.1 Подготовка технологического паспорта коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН	—
4.2 Экспериментальная верификация СОПов	14
4.3 Запись результатов верификации СОПов в электронной базе коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН	15
4.4 Получение и оцифровывание данных эколого-географического испытания по 50 сортам и гибридам картофеля в 2017 г. на территории Новосибирской области	—
4.5 Получение идентификационных паспортов для не менее 20 сортов и гибридов на основе СОП по паспортизации с использованием микросателлитных маркёров	24
4.6 Получение и обработка данных по морфологии гранул крахмала 20 сортов и гибридов	25
4.7 Получение и обработка данных по основным признакам клубня 20 сортов и гибридов с использованием разработанного метода анализа цифровых изображений	27
4.8 Внесение в электронную базу коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН данных по ЭГИ-2017; разработка интерфейса для графической визуализации полученных данных; дополнение базы данных электронного ресурса описанием 50 образцов	32
4.9 Пополнение коллекции не менее 15 новыми образцами для проведения геномных исследований; вычленение меристем данных образцов и засев в культуральную среду	34
4.10 Подготовка статей в рецензируемых журналах	35
4.11 Подготовка календарного плана работ	—

4.12 Размещение отчета о проделанной работе в рамках дополнительного государственного задания на интернет-сайте коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН	36
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	37
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	38
ПРИЛОЖЕНИЕ А Результаты эколого-географического испытания сортообразцов картофеля	39
ПРИЛОЖЕНИЕ Б Библиографический список публикаций, полученных в результате выполнения научно-исследовательской работы	73
ПРИЛОЖЕНИЕ В Стандартная операционная процедура «Хранение и браковка пробирочных растений»	74
ПРИЛОЖЕНИЕ Г Стандартная операционная процедура «Микрклональное размножение растений (черенкование)»	77
ПРИЛОЖЕНИЕ Д Стандартная операционная процедура «Введение новых образцов в коллекцию оздоровленных сортов картофеля <i>in vitro</i> »	83
ПРИЛОЖЕНИЕ Е Стандартная операционная процедура «Хранение клубневого материала, полученного из пробирочных растений с аэропонной установки»	87
ПРИЛОЖЕНИЕ Ж Стандартная операционная процедура «Выращивание мини-клубней на аэропонной установке»	89
ПРИЛОЖЕНИЕ И Стандартная операционная процедура «Проведение ИФА-диагностики на вирусные и бактериальные болезни вегетирующих растений»	92
ПРИЛОЖЕНИЕ К Стандартная операционная процедура «Проведение ИФА-диагностики на вирусные и бактериальные болезни клубневого материала»	95
ПРИЛОЖЕНИЕ Л Оборудование, расходные материалы, длительность работ и квалификация сотрудников при выполнении СОПов В-К	97
ПРИЛОЖЕНИЕ М Стандартная операционная процедура «Подготовка выровненного материала для ЭГИ»	100
ПРИЛОЖЕНИЕ Н Стандартная операционная процедура «Фенологический анализ вегетирующих растений»	102
ПРИЛОЖЕНИЕ П Стандартная операционная процедура «Клубневой анализ и выбраковка картофеля в период хранения»	104
ПРИЛОЖЕНИЕ Р Стандартная операционная процедура «Внесение данных по результатам ЭГИ»	106
ПРИЛОЖЕНИЕ С Стандартная операционная процедура «Определение количественных характеристик опушения листа картофеля»	108

ПРИЛОЖЕНИЕ Т Стандартная операционная процедура «Выделение крахмала из клубней картофеля»	114
ПРИЛОЖЕНИЕ У Стандартная операционная процедура «Определение морфологии гранул крахмала»	118
ПРИЛОЖЕНИЕ Ф Стандартная операционная процедура «Выделение и проверка качества ДНК картофеля из клубней»	122

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ИФА – иммуно-ферментный анализ

СОП – стандартная операционная процедура

ЭГИ – эколого-географическое испытание

ВВЕДЕНИЕ

Центр коллективного пользования «Коллекция генотипов сельскохозяйственных растений для проведения фундаментальных исследований в области генетики растений и разработки генетических технологий маркер-ориентированной и геномной селекции» («ГенАгро») ИЦиГ СО РАН рассматривается как целевая в рамках исполнения Указа Президента Российской Федерации №350 от 21.07.2016 г. «О мерах по реализации государственной научно-технической политики в интересах развития сельского хозяйства». Коллекция «ГенАгро» в первую очередь предназначена для разработки генетических технологий маркер-ориентированной и геномной селекции сельскохозяйственных растений, создания новых сортов, в том числе, адаптированных к условиям Сибирского региона, и проведения фундаментальных исследований в области генетики сельскохозяйственных растений. Единицами хранения коллекции являются линии, сорта, гибриды и дикорастущие формы растений. В ходе пополнения и поддержания коллекции проводятся систематическое описание собранных образцов и генетических линий растений, в том числе генетическая и геномная паспортизация, полевые и лабораторные исследования с целью получения информации о морфологических, физиологических, биохимических и генетических характеристиках растений. Актуальность поддержания и развития такой коллекции обусловлено потребностью создания конкурентоспособных отечественных сортов на основе современных методов ускоренной целенаправленной селекции.

В получении и сохранности высокого урожая картофеля главную роль играет генотип сорта. Для подбора оптимальных генотипов, подходящих для возделывания и/или селекции в заданных зонах и подзонах выращивания картофеля целесообразно задействовать сорта и гибриды картофеля в эколого-географических испытаниях. Задача экологического сортоиспытания определяет сбалансированность сорта по основным признакам в конкретных экологических условиях, это изучение и подбор для соответствующих почвенно-климатических зон лучших сортов разной спелости, высокоурожайных, высокотоварных, обладающих хорошими вкусовыми качествами, хорошей лежкостью при хранении, устойчивых к заболеваниям. Фенотипическая оценка является трудоемкой задачей, в связи с чем актуально развитие методов высокопроизводительного фенотипирования и введение их как в селекционную практику, так и в качестве оценочного инструмента образцов биоресурсных коллекций [1].

Помимо полевых испытаний ключевую роль играет лабораторная оценка биохимических свойств и признаков, связанных с переработкой картофеля. В настоящее время востребовано создание отечественных сортов картофеля на переработку в крахмал, который широко востребован как для пищевых нужд, так и для непищевых целей [2]. В связи с этим

актуально развитие методов оценки биоресурсных коллекций по характеристикам крахмала. Для проверки идентичности образцов в процессе их поддержания и воспроизведения в коллекции целесообразна разработка идентификационных паспортов на основе ДНК-маркёров. В частности, ранее был разработан удобный мультиплексный набор для анализа аллельного состава геномных микросателлитных локусов, который позволяет различать образцы коллекций картофеля на основе быстрого, точного и недорогого метода анализа [3]. С помощью микросателлитных паспортов также может осуществляться проверка идентичности сортов и после передачи их из коллекции потребителям, запрашивающим эти сорта для семеноводства. Полученная информация о генетическом сходстве на основе сравнительного анализа микросателлитных профилей разных образцов коллекции может быть полезной при передаче их селекционерам, так как позволит подбирать пары для скрещиваний, исходя не только из фенотипических признаков, но и опираясь на сведения о генетическом сходстве/различии образцов.

Информационную основу для селекционно-генетических исследований составляют генбанки, коллекции, базы данных геномов для накопления, хранения и распространения данных о основных сельскохозяйственных культурах. К генетическим данным при этом «привязывают» информацию о фенотипе растения: морфологические особенности, степени поражения листьев болезнями, вес плодов, данные о стадиях роста, термографии, флуоресценции хлорофилла, биотической стрессоустойчивости и т. д. Полезными данными в подобных базах также являются описание условий произрастания растений. Такое интегрированное представление позволяет проводить сопоставление разных видов информации и в конечном итоге решать задачи о взаимосвязи фенотипа, генотипа и условий окружающей среды [4].

В связи с вышесказанным цель работы состояла в инвентаризации и развитии коллекции «ГенАгро» с использованием современных методов паспортизации, высокопроизводительного фенотипирования и информационных технологий.

Задачи:

- 1) Создать технологический паспорт коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН.
- 2) Подготовить документацию по технологическому паспорту коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН, разместить её на интернет-сайте коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН.
- 3) Получить и оцифровать данные эколого-географического испытания по 50 сортам и гибридам картофеля в 2017 г. на территории Новосибирской области; произвести статистическую обработку данных.
- 4) Получить идентификационные паспорта для не менее 20 сортов и гибридов на основе

СОП по паспортизации с использованием микросателлитных маркёров.

5) Получить и обработать данные по морфологии гранул крахмала 20 сортов и гибридов.

6) Получить и обработать данные по основным признакам клубня 20 сортов и гибридов с использованием разработанного метода анализа цифровых изображений.

7) Произвести запись результатов верификации СОПов в электронной базе коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН.

8) Внести в электронную базу коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН данные по ЭГИ-2017; разработать интерфейс для графической визуализации полученных данных; дополнить базу данных электронного ресурса описанием не менее 50 образцов.

9) Пополнить коллекцию не менее 15 новыми образцами для проведения геномных исследований; произвести вычленение меристем данных образцов и засев в культуральную среду.

10) Подготовить и направить в печать в рецензируемые журналы (Scopus/WoS) 2 статьи, подготовленные на основе материалов коллекции, одна из которых должна быть принята в печать.

11) Составить календарный план работ по выполнению дополнительного государственного задания.

12) Разместить отчет о проделанной работе в рамках дополнительного государственного задания на интернет-сайте коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН с указанием ссылки на номер заключенного с ФАНО России соглашения на выполнение дополнительного государственного задания.

В целом, поставленные цели и задачи дают необходимую базу для функционирования коллекции картофеля.

Настоящий отчет является заключительным по теме «Инвентаризация и развитие коллекции ГенАгро» за 2017 год.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1 Общая информация о коллекции

1.1 Название коллекции: «Коллекция генотипов сельскохозяйственных растений для проведения фундаментальных исследований в области генетики растений и разработки генетических технологий маркер-ориентированной и геномной селекции» («ГенАгро»).

1.2 Наименование организации ФАНО России – держателя коллекции: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН).

1.3 Регистрационный номер биоресурсной коллекции в информационной системе «Парус» ФАНО России: 324.

1.4 Направление ФНИ: 148. Растениеводство.

1.5 Руководитель коллекции, поддерживающий коллекцию: Кочетов Алексей Владимирович, зам. директора, д.б.н., член-корреспондент РАН, e-mail: ak@bionet.nsc.ru, тел.: +7 (383) 363-49-94.

1.6 Назначение коллекции: Создаваемая коллекция в первую очередь предназначена для разработки генетических технологий маркер-ориентированной и геномной селекции сельскохозяйственных растений, создания новых сортов, в том числе, адаптированных к условиям Сибирского региона, и проведения фундаментальных исследований в области генетики сельскохозяйственных растений.

1.7 Регистрация коллекции в перечне ЦКП/УНУ «Современная исследовательская инфраструктура Российской Федерации»: Есть.

1.8 Наименование, реестровый номер и адрес ЦКП/УНУ на сайте <http://www.ckp-rf.ru>: Коллекция генотипов сельскохозяйственных растений для проведения фундаментальных исследований в области генетики растений и разработки генетических технологий маркер-ориентированной и геномной селекции (ГенАгро), реестровый номер 484615, http://ckp-rf.ru/ckp/484615/?sphrase_id=9427834.

1.9 Дата образования коллекции: 27.01.2017.

1.10 Отражение коллекционной деятельности в Уставе организации: Есть.

1.11 Положение о коллекции, утвержденное на Ученом совете организации: Протокол № 2 заседания Ученого совета ИЦиГ СО РАН от 02 февраля 2017 г.

1.12 Адрес WEB-сайта организации, на котором представлена информация о коллекции: <http://ckp.icgen.ru/plants/>.

2 Краткая информация о проделанной работе в рамках дополнительного госзадания

2.1 Текст Отчета представлен на:

а) WEB-сайте организации: <http://ckp.icgen.ru/plants/documents/>.

б) Информационном портале БРК: <http://brk.forge.sscs.ru/kollekcii/kollekcii-rasteniya-selskohozyaystvennye-rasteniya/sorta-i-gibridy-kartofelya-0>.

2.2 Содержание основных результатов работы по дополнительному госзаданию в соответствии с ПФНИ ГАН: Поиск, мобилизация и сохранение генетических ресурсов культурных растений и их диких родичей в целях изучения, сохранения и использования биоразнообразия форм культурных растений.

3 Регистрация в государственных информационных системах и финансирование

3.1 Регистрационный номер дополнительного госзадания по БРК в информационной системе «Парус» ФАНО России: 0324-2017-0001.

3.2 Регистрационный номер дополнительного госзадания по БРК в информационной системе ЦИТИС АААА-А17-117110270090-3

3.3 Отчет по дополнительному госзаданию 0324-2017-0001 подготовлен и загружен в систему Парус (*указать дату загрузки*)

3.4 Отчет по дополнительному госзаданию ЦИТИС АААА-А17-117110270090-3 подготовлен и загружен в систему ЦИТИС (*указать дату загрузки в систему ЦИТИС*)

3.5 Объем финансирования, выделенного на выполнение ДГЗ из средств ФАНО России в 2017 году: _____, Соглашение № 007-03397/3 от 09.11.2017 г.

3.6 Объем финансирования, выделенного на приобретение крупного оборудования из средств ФАНО России в 2017 г. (_____): _____ .

4 Результаты, полученные в рамках дополнительного государственного задания

4.1 Подготовка технологического паспорта коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН

Технологический паспорт коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН, содержащий: а) описание набора ключевых стандартных операционных процедур (СОП), обеспечивающих развитие и поддержание коллекционного фонда коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН; б) научно-техническое обоснование смет стандартных операционных процедур коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН. Технологический паспорт размещен на интернет-сайте коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН

(<http://ckp.icgen.ru/plants/documents/>). СОПы находятся в Приложениях В–Ф, ниже приведены их названия:

- Приложение В Стандартная операционная процедура «Хранение и браковка пробирочных растений».
- Приложение Г Стандартная операционная процедура «Микрклональное размножение растений (черенкование)».
- Приложение Д Стандартная операционная процедура «Введение новых образцов в коллекцию оздоровленных сортов картофеля *in vitro*».
- Приложение Е Стандартная операционная процедура «Хранение клубневого материала, полученного из пробирочных растений с аэропонной установки».
- Приложение Ж Стандартная операционная процедура «Выращивание мини-клубней на аэропонной установке».
- Приложение И Стандартная операционная процедура «Проведение ИФА-диагностики на вирусные и бактериальные болезни вегетирующих растений».
- Приложение К Стандартная операционная процедура «Проведение ИФА-диагностики на вирусные и бактериальные болезни клубневого материала».
- Приложение Л Оборудование, расходные материалы, длительность работ и квалификация сотрудников при выполнении СОПов В-К.
- Приложение М Стандартная операционная процедура «Подготовка выровненного материала для ЭГИ».
- Приложение Н Стандартная операционная процедура «Фенологический анализ вегетирующих растений».
- Приложение П Стандартная операционная процедура «Клубневой анализ и выбраковка картофеля в период хранения».
- Приложение Р Стандартная операционная процедура «Внесение данных по результатам ЭГИ».
- Приложение С Стандартная операционная процедура «Определение количественных характеристик опушения листа картофеля».
- Приложение Т Стандартная операционная процедура «Выделение крахмала из клубней картофеля».
- Приложение У Стандартная операционная процедура «Определение морфологии гранул крахмала».
- Приложение Ф Стандартная операционная процедура «Выделение и проверка качества ДНК картофеля из клубней».

Для обоснования смет основных стандартных операционных процедур, обеспечивающих развитие и поддержание коллекции «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН, были собраны данные об оплате труда, приобретении материалов, расходах на содержание оборудования, коммунальных и иных затратах, необходимых для выполнения работ по перечисленным ниже направлениям деятельности коллекции:

- 1) Выполнение стандартных операционных процедур (СОП).
- 2) Выполнение научно-исследовательских работ.
- 3) Общее содержание коллекции.

Собранные данные были использованы для расчета стоимости выполнения 15 СОП. Обобщенный пример расчета стоимости СОП приведен в таблице 1.

Таблица 1 – Расчет стоимости СОП «Определение морфологии гранул крахмала»

№, п/п	Статья расходов	Сумма, руб.
1	Оплата труда	132,32
2	Приобретение материалов	647,38
3	Иные затраты	—
4	Содержание оборудования	3 615,50
	Итого:	4 395,20

Расчеты проводились в соответствии с моделью и методикой оценки, разработанными ИЦиГ СО РАН в рамках выполнения дополнительного государственного задания по теме: «Разработка модели финансового управления сохранением и рациональным использованием биоресурсов в рамках функционирования биоресурсных научных коллекций» (http://www.biores.cytogen.ru/brc_finance/report). Полный набор данных представлен на портале «Биоресурсные коллекции ФАНО России» (http://www.biores.cytogen.ru/brc_finance/collections/18).

4.2 Экспериментальная верификация СОПов

Проведена экспериментальная верификация СОП «Введение новых образцов в коллекцию оздоровленных сортов картофеля *in vitro*» (Приложение Д) на примере 15 образцов различных видов картофеля (результаты введения новых образцов в коллекцию оздоровленных сортов картофеля *in vitro* описаны далее в п. 4.9.)

Проведена экспериментальная верификация СОП «Определение морфологии гранул крахмала» (Приложение У) на примере 20 сортов и гибридов картофеля. Для верификации СОПа были использованы следующие сорта и гибриды картофеля: Агата, Алена, Божедар, Г-

785_8_5, Г-999/1а, Г-3-43-6, Г-06-05-2015, Г-21-8516, Г-С-112-03, Гранола, Дебрянский, Диамант, Ладожский, Марет, Милавица, Наяда, Пикассо, Сантэ, Свитанок Киевский, Хозяюшка (результаты определения морфологии гранул крахмала описаны далее в п. 4.6.).

4.3 Запись результатов верификации СОПов в электронной базе коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН

Результаты верификации СОПов в составе электронной версии настоящего отчета внесены на сайт коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН (<http://ckp.icgen.ru/plants/documents/>).

4.4 Получение и оцифровывание данных эколого-географического испытания по 50 сортам и гибридам картофеля в 2017 г. на территории Новосибирской области

За отчетный период в соответствии с планами получены и оцифрованы данные ЭГИ по 60 сортам и гибридам картофеля в 2017 г. на территории Новосибирской области. Произведена статистическая обработка данных.

Результаты ЭГИ и условия проведения испытаний приведены в Приложении А.

В результате эколого-географического сортоиспытания 60 образцов в 2017 году были выделены сорта и гибриды с высоким потенциалом получения раннего урожая и продуктивности, устойчивости к распространенным заболеваниям вегетации и хранения. Выявлены сорта с высокими биохимическими показателями, а также источники высокой гибридоспособности для получения новых гибридов и сортов.

4.4.1 Ранний урожай и продуктивность

Из 22 сортов ранней группы спелости 17 имеют ультраранний урожай (60 дней после посадки) выше 150 ц/га, а Метеор и Самба 280 и 298 ц/га (Табл. А7). По раннему урожаю (75 дней п/ посадки) выше 300 ц/га у 14 сортов, а у сортов: Ломоносовский, Люкс, Регги, Саровский и гибридов ТатНИИСХ – 3-43-2 и 3-43-6 выше 350 ц/га.

Продуктивность 14 сортообразцов ранних групп спелости достигла от 360 ц/га у Любавы (КемНИИСХ) до 492 ц/га у сорта Люкс (УралНИИСХ). Из 20 сортов среднеранней группы спелости у 10 очень ранний урожай выше 150 ц/га (Табл. А8). Ранний урожай (75 дней после посадки) у 17 сортов этой группы превышает 280 ц/га. Величина раннего урожая достигает у этих сортов от 245 ц/га у Г.21/8516 (ВИР) до 414 ц/га у Ильинского. Продуктивность среднеранних сортов свыше 300 ц/га. У 14 сортов она превысила 350 ц/га. У сортов Браво, Вираз, Ильинский, Невский, Памяти Рогачева, С-112-03 (СибНИИСХиТ), Сафо, Танай и Г-06-08-2015 (ВИР) продуктивность превысила 400 ц/га. Наивысшая продуктивность 468 ц/га у сорта Танай. Из 18 сортов среднеспелой и среднепоздней групп спелости только Жигулевский, Колобок, Никулинский, Фаворит и Югана имеют очень ранний

урожай выше 150 ц/га (Табл. А9). Ранний урожай (75 дней п/посадки) сортов этой группы варьирует от 175 ц/га у Фиолетового до 437 ц/га у Златки. Продуктивность этой группы спелости наивысшая по сравнению с раннеспелыми и среднеранними сортообразцами. Только у Фиолетового, Ирбитского и Танго она достигла 252–330 ц/га. Продуктивность других сортов превышала 350 ц/га. Сорта Югана, Никулинский, Вымпел, Голубизна, Великан, Тулеевский и Златка превысили 400 ц/га.

4.4.2 Устойчивость к распространенным заболеваниям вегетации

Высокие температуры в начале вегетации вызвали сильное развитие вирусных заболеваний. Практически 50% испытуемых образцов были поражены крапчатостью (мягкая мозаика, вызванная вирусами Х и S) от 50 до 100% (Табл. А4).

Вегетационный период 2017 года характеризовался эпифитотийным развитием фитофтороза. Первые признаки поражения растений фитофторозом были отмечены 31 июня на Жуковском раннем до 6 баллов; на сортах Самба, Люкс, Юна и Вираз до 7 баллов; на образцах Любава, Регги, Старт, Г.21/8516 (ВИР) и Ильинский до 8 баллов. Оценка перед скашиванием ботвы показала проявление фитофторы на 3 балла у 19 образцов, а у сортообразцов Импала, Люкс, Вираз, Сударыня и Г 21/8516 поражение было на 1 балл (полная гибель ботвы). Только сорта Гусар и Фрителла были иммунными к фитофторе (Табл. А4).

4.4.3 Лабораторное тестирование сортообразцов с помощью ИФА

Наиболее значительное наличие вирусов в растениях при коэффициенте экстинкции от 0,7 до 1,87 были у сортов: Любава (Кем НИИСХ), Саровский, Невский, Златка. Следы накопления жесткого вируса Y выявлены методом ИФА на сортах Чароит, Жуковский ранний, Вираз, Невский, Танай (Табл. А5).

4.4.4 Устойчивость к распространенным заболеваниям хранения

Клубневой анализ в 2017 году выявил что из 60 исследуемых образцов гнилями хранения (фитофтороз, сухая фузариозная, фузариозно-бактериальная и водянистая) поразились слабо клубни 20 образцов от 1,7% у Кузнечанки до 10,4% у Никулинского. У 15 образцов клубни поразились сильно: от 40,3% у Вымпела до 87% у Арлекина и Юганы. Клубни, изучаемых образцов, не поразились серебристой паршой у 9 образцов, паршой обыкновенной у 22 образцов. Ризоктониозом не поразились клубни только 2 сортов – Танго и Фиолетовый. Ростовые трещины выявлены у 8 образцов из 60: 3–4% у сортов Старт и Антонина; 7–15% у сортов Самба, Бабушка, Крепыш; 30 и 50% у Ред Скарлет и Импала (Табл. А11).

4.4.5 Биохимический состав клубней, исследуемых сортов различных групп спелости

Из 22 ранних сортообразцов у 8 высокий показатель крахмала от 16 до 19,6 % (Табл. А12). У 13 образцов высокие показатели аскорбиновой кислоты: от 7,5 у Ломоносовского до

11,0 мг/100 г веса у сорта Чароит. Высокое содержание сухого вещества у 3 ранних сортов: Антонина – 27,5 %, Регги – 27,8 %, Саровский – 30,0 %. Высокое содержание аскорбиновой кислоты дает хороший вкус у сортов с низким содержанием крахмала. У 8 из 20 среднеранних образцов высокий уровень крахмала от 16,0 до 18,7 % (Табл. А13). У 14 образцов высокие показатели аскорбиновой кислоты (от 7,5 у сорта Гала до 12,0 мг/100 г веса у сорта Браво). У среднеспелых сортов высокий крахмал из 18 образцов: от 16,0 % (Арлекин, Жигулевский) до 21,4 % (Танго) (Табл. А14). У 13 образцов высокие показатели аскорбиновой кислоты от 7,5 у Гусара до 11,0 у сорта Югана. Высокое содержание аскорбиновой кислоты дает хороший вкус у сортов с низким содержанием крахмала.

4.4.6 Оценка столовых качеств сортообразцов картофеля

Сорта ранних групп спелости относятся к кулинарному типу А и АВ со вкусовой оценкой 7-8 баллов (Табл. А15). Среднеранние сорта относятся к кулинарному типу АВ и ВС со вкусовой оценкой 7-8 баллов (Табл. А15). Среднеспелые сорта относятся к кулинарному типу АВ и ВС со вкусовой оценкой 8-9 баллов (Табл. А15).

4.4.7 Морфометрические признаки сортов картофеля

По окраске клубня испытуемые сортообразцы делятся следующим образом: 50 % – желтоклубневые, 25 % – красноклубневые, 13,3 % – белоклубневые, 6,7 % с розовыми клубнями, 3,3 % с фиолетовыми и 1,7 % с пестро-фиолетовыми клубнями. По состоянию поверхности кожуры клубня образцы разделились на гладкие 55 %, гладко-сетчатые – 36,7 % и сетчатые – 8,3 %. По окраске мякоти клубня сортообразцы делятся на желтомясые – 66,7%, в том числе со светло-желтой мякотью 13 образцов; беломясые – 31,7 %, в том числе 6 образцов с кремовой окраской мякоти, 1,6 % с фиолетовым цветом мякоти. По окраске цветка: образцы разделились на красно-фиолетовые различных оттенков – 56,7 %, белые – 41,7 % и синие – 1,6 %. По глубине глазков испытуемые сортообразцы делятся на образцы, имеющие средней глубины глазки – 33,3 %, мелкие – 56,7 % и поверхностные – 10 %. К последней группе относятся Чароит, Г 3-43-2, Ред Скарлет, Гулливер, Тулеевский, Фаворит. По форме клубня образцы разделились на округло-овальные – 45 %, овальные – 13,3 %, удлинено-овальные – 33,3 % образцов и округлые – 8,3 % (Горняк, Златка, Ирбитский, Колобок и Танго). Ирбитский и Танго округлые красноклубневые и желтомясые сорта с высокими вкусовыми качествами (Табл. А10).

4.4.8 Опушение листа

В рамках ЭГИ проведен анализ опушения листа исследуемых 60 сортов и гибридов. Для сбора образцов были использованы здоровые растения картофеля, выращенные в поле СибНИИРС. Сбор материала производился в третьей декаде августа. Листья были опущены черешком в воду для поддержания тургора. В условиях лаборатории было отобрано по

3 взрослых листа стандартного размера (листовая пластинка $5 \pm 0,5$ см) со случайных растений каждого из 60 генотипов.

Подготовка препаратов и анализ проводились в соответствии с СОП «Определение количественных характеристик опушения листа картофеля» (Приложение С). Из листьев были вырезаны фрагменты, заключённые между крупных жилок размером около 10×20 мм. Фрагменты были согнуты пополам и помещены на предметное стекло. Для каждого генотипа было приготовлено по 8 препаратов, содержащих 2 сгиба листа каждый и получено минимум 12 изображений. С учётом фрагментации изображений на две части для описания опушения каждого генотипа было получено 24 отдельных измерения. Большее количество препаратов необходимо для отбраковки при съёмке – лист картофеля легко повредить при транспортировке, закреплении на препарате или установке под микроскоп. Всего было сделано более 600 снимков.

Динамика качества приготовления препаратов показала, что свежие листья (в первый час после отбора) ломаются сильнее, чем в последующие часы. При этом листья хранятся с некоторым падением тургора, но без утери и искажения размеров трихом 12–18 часов. Дальнейшее хранение неодинаково для разных генотипов и образцов, по всей видимости, зависит от физиологических особенностей сорта и поражённости его вредителями.

Для анализа изображений использовалась программа LHDetect2, адаптированная для картофеля [5, 6]. Для фенотипирования картофеля был использован протокол для LHDetect2 и микроскоп Zeiss Axioscop с камерой разрешением 4248×2832 ЦКП Микроскопии и объектив $\times 2,5$. Увеличение размера и разрешения матрицы, а также согласованное уменьшение увеличения объектива позволило получить размер пикселя изображения около 3,2 мкм, что максимально сохраняет ранее использованные характеристики объектов, но потенциально увеличить количество собранных данных.

Для каждого сорта были оценены распределения трихом по интервалам длин. Из этих данных были вычислены основные характеристики опушения – длина трихом и их количество. Эти значения приведены в таблице 2. Также в таблице приведена максимальная отмеченная для сорта длина трихомы.

Таблица 2 – Значения количественных характеристик опушения изученных сортов картофеля

Название сорта	N, шт.	L, мкм	Lmax, мкм
1	2	3	4
Метеор	$14 \pm 1,9$	$85,6 \pm 15,6$	$128 \pm 24,4$
Самбо	$13 \pm 1,9$	$86,8 \pm 15,5$	$129,6 \pm 24,8$
Чароит	$12,1 \pm 1,7$	$86,7 \pm 15,5$	$129,6 \pm 24,8$

Продолжение таблицы 2

1	2	2	4
Антонина	9,1±1,5	85,7±15,9	128,5±25,2
Арлекин	10,4±1,5	84,4±16	127,9±25,5
Бабушка	14,6±2,1	83,7±16,1	126,8±25,9
Г.3-43-6	15,7±2,3	81,8±15,5	123,6±25,1
Г.3-43-2	10,4±1,9	82,2±15,4	122,8±25,2
Г.23/861	18,9±1,5	81,8±15,5	123,8±25,3
Жуковский ранний	16,2±2,3	79,3±13,6	121,2±23,4
Импала	3,4±1,4	79,5±13,5	120,5±23,4
Крепыш	6,5±1,5	78,7±13,4	119,3±23,2
Ломоносовский	6±1,7	76,2±11,7	121,1±24
Любава(мос)	6,7±2,1	74,9±11	119±23,8
Любава(кем)	7,6±1,2	78,4±10,4	126,7±23,6
Люкс	7,8±1,1	76±8,8	126,5±23,4
Матушка	8±1,7	75,7±8,8	126,2±23,5
Ред Скарлет	14±2,4	76,4±8,6	126,6±23,4
Регги	1±0,1	75,6±8,3	124,5±22,8
Саровский	7,7±1,3	77,8±6,7	129,4±20,5
Старт	9,5±1,2	78,4±6,7	130,3±20,5
Удача	8,5±1,4	77,5±6,4	128,1±20,2
Юна	13,9±1,6	76,7±6,4	130±20,4
Браво	6,5±1	75,6±6	125,8±18,7
Василёк	13,3±1,2	75,7±6	126,3±18,4
Вираз	11,3±1,7	75,3±5,7	124,1±17,7
Г21.8561	13,7±1,3	75,2±5,8	123,9±17,7
Гала	9,2±1,5	75,9±5,2	124,9±17,1
Горняк	9,4±1,9	76,2±5	125,8±16,7
Гулливёр	8,6±1,1	76,6±5	128,2±16
Кортни	1±0	75,1±6,1	126,7±16,8
Кузнечанка	1±0	75,2±6,1	129,4±16,9
Лина	1±0	75,6±6,1	130,6±17,4
Памяти Рогачёва	1±0	75,2±5,9	129,2±17,1
Русский Сувенир	1±0	76,1±6,1	132,3±18
С_112_03	1±0	75,8±6,2	131,8±18,1
Сафо	1±0	75,9±6,3	128,8±17,3
Сударыня	10,3±1,9	75,6±6,2	130,6±17,2
Танай	8,9±1,3	72,8±5,7	123,9±16,7
Г_06_08_2015	10,3±1,5	74,1±6,6	127±20,6
Великан	11,6±1,3	74,5±6,6	127,6±20,4

Окончание таблицы 2

1	2	3	4
Вымпел	11,6±1,8	74,2±6,6	128,4±20,2
Голубизна	11±1,6	72,5±7,6	125,4±21,6
Гусар	11±1,2	72,4±7,6	124,8±21,5
Жигулёвский	11,4±1,4	72,1±7,5	125,8±21,9
Златка	8,7±1,3	72,2±7,5	128,5±22,5
Ирбитский	9,4±1,3	72,6±7,5	125,9±22,6
Колобок	12,6±1,6	73,1±7,6	128,3±22,8
Накра	9±1,9	73,3±7,6	129,7±22,4
Никулинский	10,9±1,5	72,2±7,8	129,1±22,5
Солнечный	15,1±2,1	72,3±7,8	130±22,5
Танго	16,5±1,4	72,9±7,8	131,1±22,3
Тулеевский	10,7±1,6	73±7,8	132,5±22,1
Фаворит	13,9±2	72,5±7,8	131,1±22,2
Фиолетовый	16,6±1,6	72,8±7,6	131,3±22,1
Фрителла	15,3±1,6	72,3±7,6	129,8±21,9
Югана	12,4±1,7	71,3±7,8	127,2±21,5

Для более наглядного отображения значений длины (L) и плотности опушения (N) на рисунке 1 приведён график рассеяния значений.



Рисунок 1 – Диаграмма рассеяния средней длины (по вертикали) и числа трихом (по горизонтали) на изображении у исследованных сортов картофеля

Достоверной корреляции между этими двумя признаками не обнаружено. Максимальное значение плотности опушения найдено у линии Г.23/861, минимальное – для сортов Кортни, Кузнечанка, Лина и Сафо. Максимальная длина опушения наблюдалась для сортов Самбо и Чароит, минимальная – для сорта Югана. Высокие значения длины и плотности опушения наблюдали также для сортов Метеор, Бабушка, а также линии ГЗ-43-6.

Для более точного анализа количественных характеристик опушения листа картофеля были изучены распределения трихом по интервалам длин. Интервалы аппроксимации были выбраны в 60 пиксель – примерно 180 мкм. Для выявления сходства и различия между сортами по множеству этих параметров был проведён анализ главных компонент. Выделенные компоненты описывают 0,61, 0,20 и 0,15 вариансы соответственно. Распределения значений этих компонент для всех изученных генотипов приведено на рисунке 2.

В результате применения методов многомерного анализа данных выявлено, что трихомы разных интервалов длин распределены по сортам частично независимо. Используя такие данные можно разделить сорта на кластеры по степени сходства опушения листа (рисунок 2, а). Высокая доля объясненной дисперсии для первых трех компонент (~90%) указывает на то, что изменчивость опушения листьев картофеля на нижней стороне является менее комплексной, чем таковая на верхней и может быть сведена к изменению небольшого числа параметров, таких как трихомы разных интервалов длин. Однако следует отметить, что использование только средней длины и плотности расположения трихом недостаточно для деления сортов на группы по степени сходства опушения.

Для изучения соотношения признаков опушения на верхней и нижней сторонах была проведена оценка соответствия числа и длины трихом на нижней и на верхней стороне листа. Графики рассеяния приведены на рисунке 3.

Данные, представленные на рисунке 3, не выявляют значимых корреляций. Исходя из проведенного анализа можно заключить, что имеется независимый характер генетического контроля инициации новых трихом в процессе роста листа и роста трихом в длину у изученных сортов картофеля. Трихомы на нижней поверхности листа картофеля как правило расположены плотнее (их число больше) и имеют большую длину.

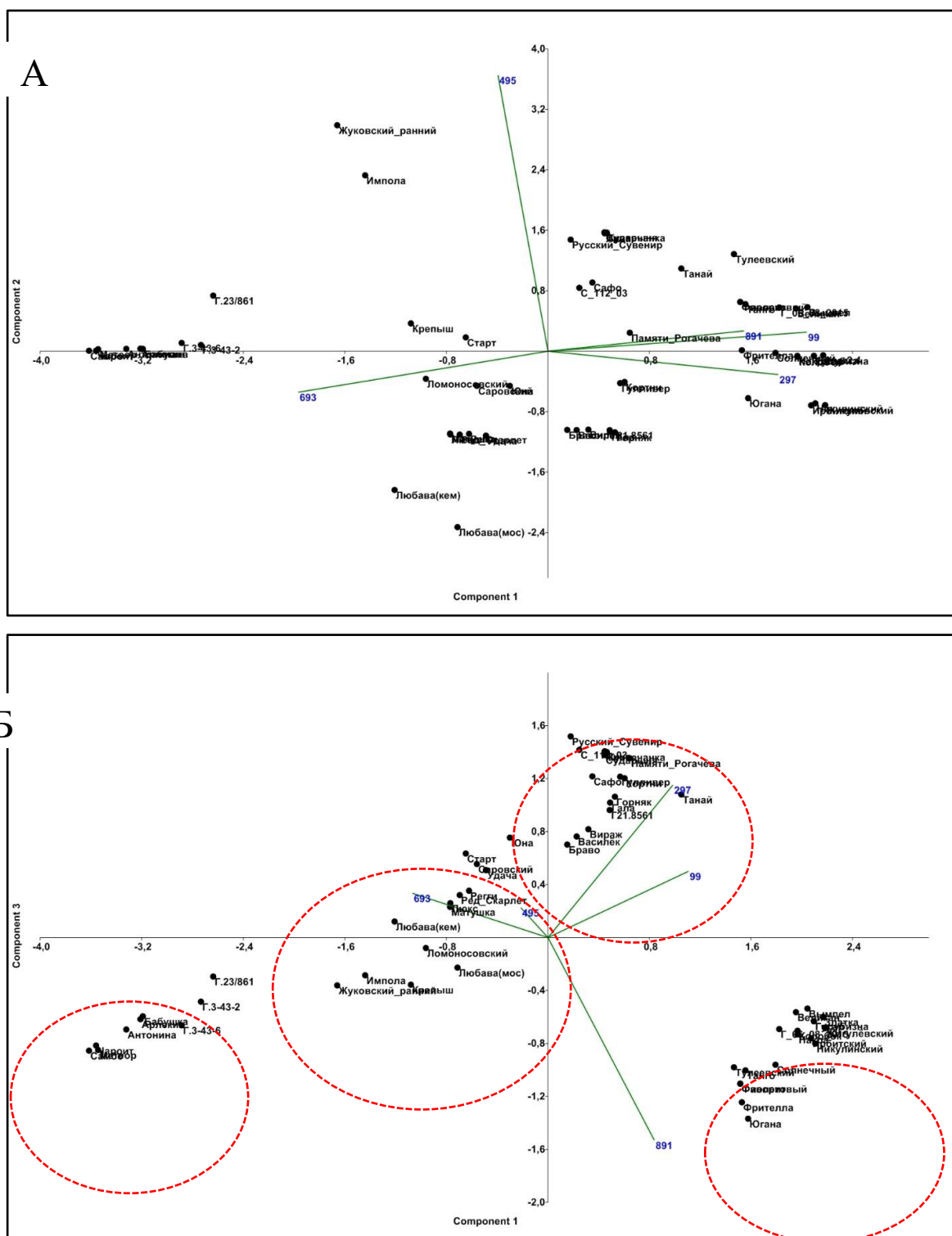
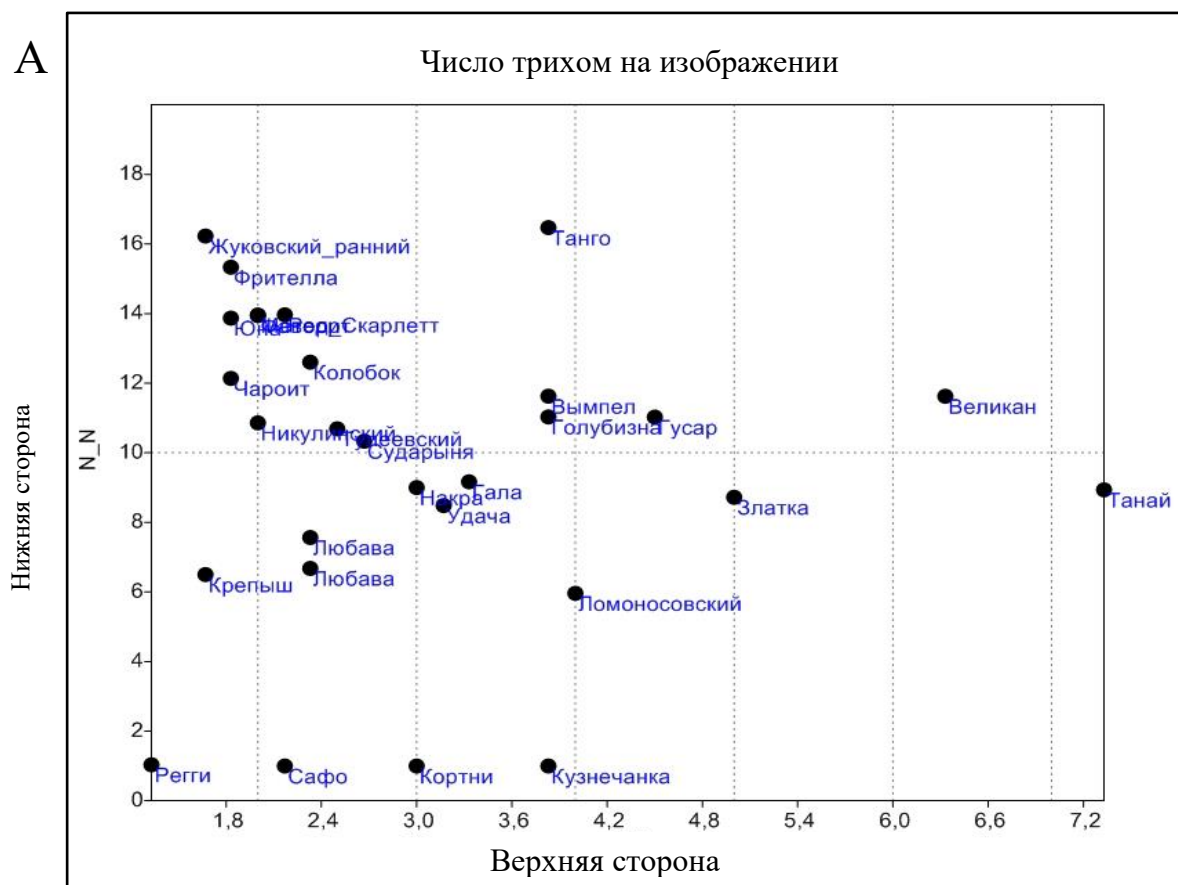


Рисунок 2 – Отображение сортов картофеля в пространстве двух первых (А), а также 1 и 3 главных компонент (Б), полученных в результате анализа количественных характеристик опушения. На графиках рассеяния также отмечены проекции исходных признаков – цифрами обозначены средние значения интервалов. На части Б пунктиром выделены области группировки сортов по степени сходства количественных характеристик опушения

А



Б

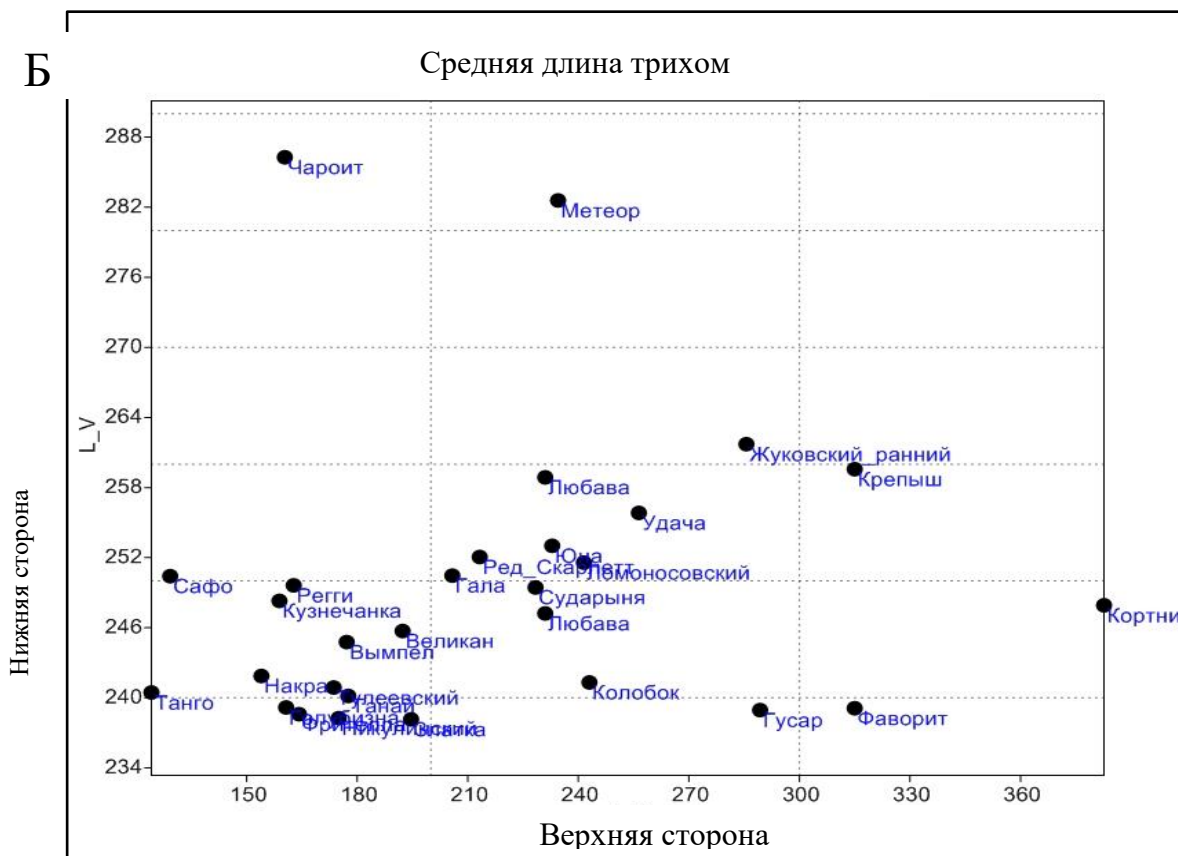


Рисунок 3 – Диаграмма рассеяния значений количественных характеристик опушения на нижней стороне листа (по вертикали) и на верхней (по горизонтали). Приведено количество трихом на изображении А и их средняя длина

4.5 Получение идентификационных паспортов для не менее 20 сортов и гибридов на основе СОП по паспортизации с использованием микросателлитных маркёров

За отчетный период в соответствии с планами осуществлена паспортизация 20 сортов и гибридов картофеля – образцов коллекции «ГенАгро», включая 4 сорта селекции СибНИИРС – филиала ИЦиГ СО РАН (Златка, Лина, Юна, Сафо) и 16 перспективных гибридов селекции СибНИИРС, включенных в состав коллекции (710/10-5, 1-7-5А, 1-9-2, 2-5-4Б, 1-14-2А, 1014/3-1, 821/1-5, 419/8-1, 1014/8-1, 1013/3-1, 790/1-5, 826/1-5, 2-5-2, 785/8-5, 999/1-1, 597/4-1).

Выделение ДНК осуществлялось в соответствии с СОП «Выделение и проверка качества ДНК картофеля из клубней» (Приложение Ф). Далее выделенная ДНК использовалась в ПЦР с мультиплексным набором, включающим 10 микросателлитных маркёров (STI0032, STG0016, STI0001, STI0004, STM1104, STM5127, STI0030, STI0033, STI0014, STM5114), ранее отобранных для паспортизации картофеля *Solanum tuberosum* L. [3]. ПЦР и анализ длин, полученных ПЦР-фрагментов осуществлялся в соответствии с ранее описанной методикой [3]. Каждый из 20 исследованных образцов картофеля имел индивидуальный набор аллелей микросателлитных локусов, что позволяло различать образцы между собой.

Сравнительный анализ наборов микросателлитных аллелей 20 образцов с помощью метода главных компонент (рисунок 4) демонстрирует степень различия сортов и гибридов. Видно, что даже наиболее близкие по микросателлитным профилям образцы 2-5-4Б, 790/1-5, 1-7-5А, 785/8-5 четко дискриминируются. Разработанные паспорта могут использоваться для проверки идентичности образцов в процессе их поддержания и воспроизведения в коллекции. С помощью паспортов сортов Златка, Лина, Юна, Сафо может осуществляться проверка идентичности этих сортов после передачи их из коллекции потребителям, запрашивающим эти сорта для семеноводства. Полученная информация о генетическом сходстве всех изученных генотипов может быть полезной при передаче этих образцов селекционерам, так как позволит подбирать пары для скрещивания, исходя не только из фенотипических признаков, но и, опираясь на сведения о далеком генетическом сходстве образцов. Целесообразно продолжить паспортизацию образцов коллекции «ГенАгро» при помощи мультиплексного набора микросателлитных маркёров [3].

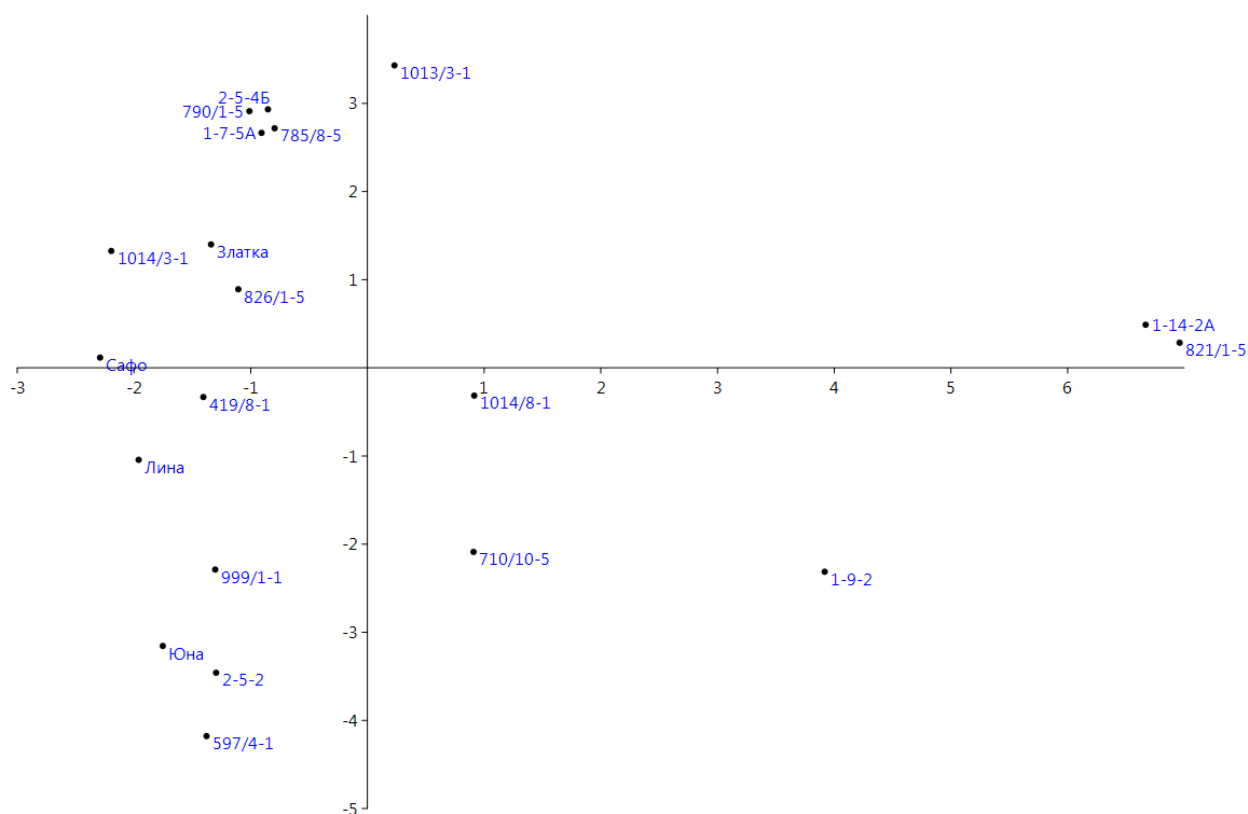


Рисунок 4 – Сравнительный анализ наборов микросателлитных аллелей 20 образцов с помощью метода главных компонент

4.6 Получение и обработка данных по морфологии гранул крахмала 20 сортов и гибридов

За отчетный период в соответствии с планами осуществлена характеристика 20 сортов и гибридов коллекции «ГенАгро» с помощью СОП «Определение морфологии гранул крахмала» (Приложение У).

В ходе работы по коллекции «ГенАгро» 20 образцов крахмала различных сортов и гибридов картофеля были оценены по СОП «Определение морфологии гранул крахмала» (см. Приложение У). Весь биоматериал был получен в 2017 году по следующей схеме:

- Количество рядков для данного генотипа – 2
- Количество растений в рядке – 10 шт.
- Длина рядков – 3 м
- Расстояние между рядами – 0,75 м
- Расстояние между растениями в рядах – 0,30 м
- Расстояние между повторностями – 2 м
- Повторность трёхкратная
- Способ посадки – вручную или клоновой сажалкой в предварительно нарезанные гребни

- Срок посадки – первая декада мая
- Срок уборки урожая – 3 сентября 2017 года.

После уборки клубни хранились в течение 3 недель в картофелехранилище СибНИИРС (филиала ФИЦ ИЦиГ СО РАН) при температуре +4 °С, после чего оценивалось поражение их фитопатогенами. Одновременно отбирались здоровые клубни для получения и исследования крахмала. Из числа здоровых клубней данного сортообразца (от 100 до 300 штук) отбрасывались по 25% самых крупных и самых мелких, из оставшихся 50% отбирались по пять клубней с видом и морфологией, типичными для данного сорта, без повреждений и дефектов.

Определение морфологии гранул крахмала проведено согласно СОП «Определение морфологии гранул крахмала» (Приложение У). Полученные морфологические характеристики приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Морфологические характеристики крахмала из 20 сортов и гибридов картофеля урожая 2017 года из коллекции «ГенАгро» ФИЦ ИЦиГ СО РАН. Г – гибрид

№	Наименование	Средняя площадь проекции, мкм ²	Средний диаметр Фере, мкм	Мода по диаметру Фере, мкм	Средняя округлость
1	2	3	4	5	6
1	Агата	642.35±557.38	31.51±14.34	25	0.80±0.11
2	Алена	1060.06±882.87	39.50±17.71	29	0.85±0.07
3	Божедар	772.70±695.46	34.56±16.61	23	0.83±0.10
4	Г-785_8_5	598.35±557.30	30.44±14.47	23	0.83±0.08
5	Г-999/1a	598.59±528.74	29.29±14.00	21	0.87±0.07
6	Г-3-43-6	841.62±734.80	34.84±15.40	27	0.86±0.04
7	Г-06-05-2015	627.04±567.87	30.68±14.86	26	0.83±0.11
8	Г-21-8516	788.42±794.98	33.58±17.29	28	0.84±0.09
9	Г-С-112-03	809.12±748.88	34.01±16.71	25	0.85±0.07
10	Гранола	1035.73±880.49	39.66±19.14	24	0.82±0.10
11	Дебрянский	826.46±765.34	34.77±17.57	26	0.83±0.09
12	Диамант	1306.59±1164.49	42.79±22.15	29	0.83±0.10
13	Ладожский	668.17±705.95	31.66±16.55	24	0.79±0.13
14	Марет	1182.79±1010.33	41.96±19.58	27	0.84±0.07
15	Милавица	652.13±595.47	31.24±14.88	24	0.84±0.10

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5	6
16	Наяда	866.45±936.87	36.01±18.47	25	0.79±0.12
17	Сантэ	661.60 ± 541.32	31.77±13.99	25	0.83±0.10
18	Пикассо	630.72±573.87	30.85±15.26	20	0.80±0.13
19	Свитанок Киевский	708.82±606.29	32.42±14.23	32	0.83±0.10
20	Хозяюшка	651.21±569.60	31.29±13.73	26	0.86±0.06

4.7 Получение и обработка данных по основным признакам клубня 20 сортов и гибридов с использованием разработанного метода анализа цифровых изображений

За отчетный период в соответствии с планами получены и обработаны данные по основным признакам клубня 20 сортов и гибридов с использованием разработанного метода анализа цифровых изображений.

Нами был разработан протокол по фенотипированию клубней картофеля для оценки морфометрических характеристик на основе анализа изображений. Протокол заключается в следующем. Чистый клубень располагается на прозрачной подставке над синим фоном (рисунок 5). Рядом с клубнем располагалась цветовая палитра X-rite ColorChecker (<http://xritephoto.com/colorchecker-classic>), необходимая для последующей калибровки цвета на изображении и оценки масштаба изображения. Фотокамера фиксировалась на стойке типа «журавль» на высоте 150 см. Для освещения использовали два импульсных источника света Falcon TE-300 (мощность вспышки выставлена в положение 1.0 и 1.4), в качестве модификаторов использовали софтбоксы Falcon 60x60 см; камера Canon 600D, объектив EF-S 28-135mm f/3.5-5.6; параметры съемки выдержка 1/160, диафрагма 10, ISO 200, фокусное расстояние 112 мм, съемка в RAW-формат; баланс белого устанавливался при проявке RAW-файла по белому фону ColorChecker. Расстояние от фотоаппарата до объекта 70 см, от источников света до объекта 60 см, высота стола 60 см, высота просветного столика со стеклом (расстояние от объекта до синего фона) 20 см. Схема размещения камеры и источников света относительно объекта приведена на рисунке 5, результат изображения полученного в результате выполнения протокола на рисунке 6.

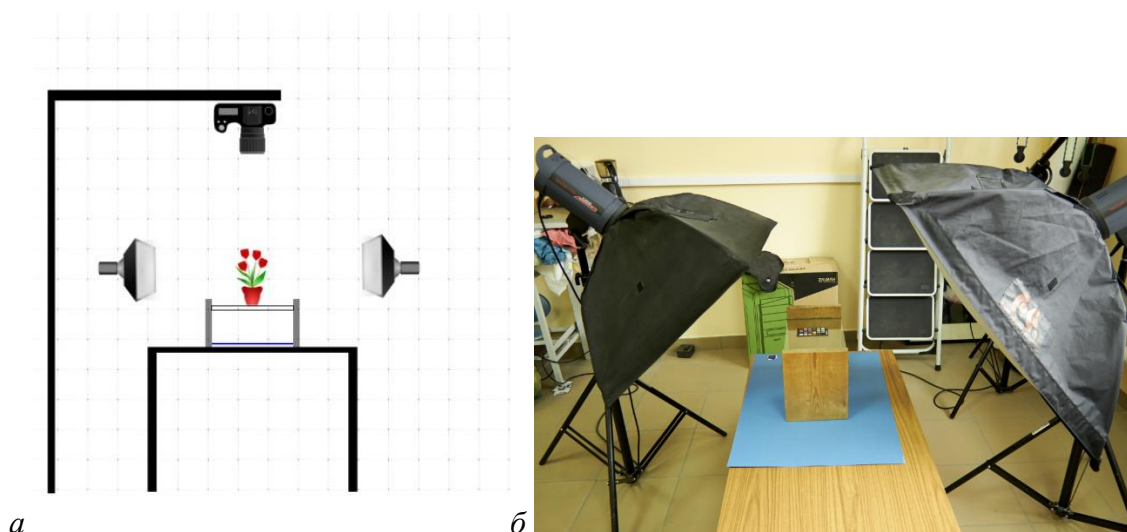


Рисунок 5 – Методика съемки клубней картофеля, при которой клубень располагается на стекле над синим фоном: *а* – схема размещения камеры и источников света относительно объекта съемки; *б* – общий вид оборудования

В рамках протокола для каждого сорта делались три изображения: два изображения разных клубней целиком (эти изображения необходимы для оценки характеристик формы и цвета кожуры) и одно изображение продольного разреза клубня (используется для оценки цветовых характеристик мякоти). Пример изображений целого клубня и его разреза для сорта Невский приведен на рисунке 6.

Нами был проведен анализ клубней растений 20 сортов, выращенных на поле СибНИИРС в 2017 г. в рамках ЭГИ.

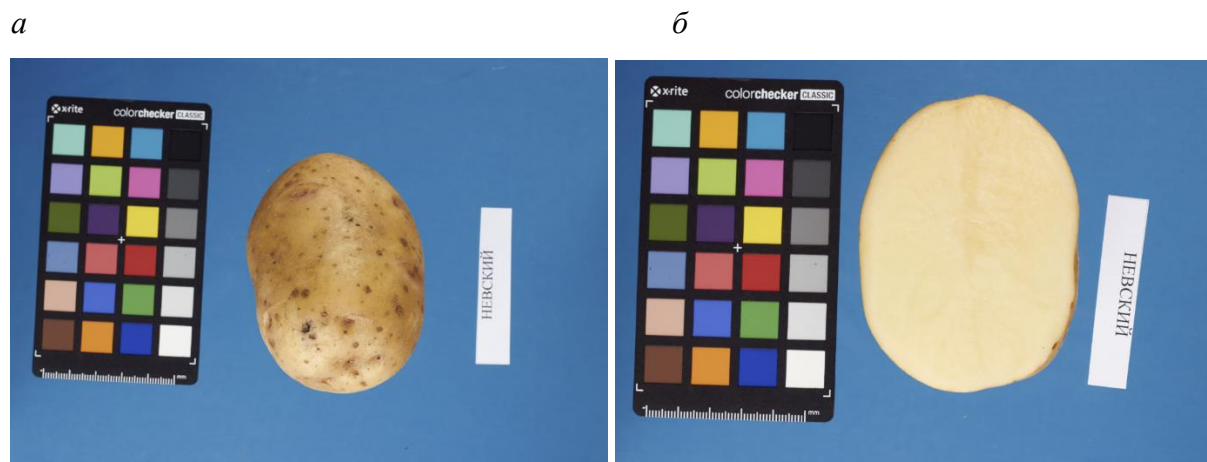


Рисунок 6 – Пример изображений клубней сорта Невский, полученных в результате описанного протокола: *а* – клубень целиком; *б* – клубень в разрезе

Алгоритм обработки изображений для характеристики формы клубня

- 1) Идентификация Цветовой палитры на изображении, оценка по ее размерам масштаба пикселя и цветокоррекция изображения.
- 2) Удаление на изображении этикетки с названием сорта.
- 3) Классификация пикселей изображения по цвету на два класса: клубень и фон. Выделение клубня на изображении и его границы.
- 4) Оценка размеров клубня (длины, ширины и площади) по алгоритму, разработанному на прошлом этапе (2016 г.).

По итогам анализа программа выдавала оценку следующих параметров клубней: длина (мм), ширина (мм), периметр (мм), площадь изображения клубня (мм²), вытянутость (отношение длины к ширине).

Результаты анализа формы клубней у сортов и линий картофеля

Нами были проанализированы 20 сортов картофеля из списка ЭГИ. Результат представлен в таблице 4.

Таблица 4 – Оценка морфометрических характеристик клубней картофеля по данным анализа цифровых изображений

Сорт	Ширина клубня, мм	Длина клубня, мм	Площадь, мм ²	Периметр, мм	Вытянутость
1	2	3	4	5	6
Вымпел	84.6	108.1	7239.0	333.2	1.28
Гулливер	53.3	106.6	4905.0	285.1	2.00
Саровский	68.9	81.1	4294.0	250.8	1.18
Югана	58.2	92.1	4290.0	262.7	1.58
Ирбитский	64.1	73.6	3839.0	234.7	1.15
Никулинский	63.6	77.5	3803.0	235.3	1.22
Вираз	60.8	79.1	3773.0	235.2	1.30
Чароит	53.9	83.9	3628.0	235.8	1.56
Импала	48.9	83.7	3418.0	231.6	1.71
Невский	55.7	71.1	3169.0	215.9	1.28
Солнечный	55.2	67.3	3083.0	217.0	1.22
Колобок	57.4	67.8	3067.0	209.7	1.18
Гала	52.8	71.3	3017.0	211.3	1.35
Танай	55.1	64.1	2860.0	204.3	1.16

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4	5	6
Браво	52.8	64.3	2630.0	194.6	1.22
Лина	50.4	58.1	2530.0	191.2	1.15
Ред Скарлет	49.2	61.9	2433.0	188.4	1.26
Танго	54.8	55.8	2342.0	182.3	1.02
Фиолетовый	39.1	67.8	2174.0	185.5	1.73
Голубизна	47.6	55.5	2126.0	176.4	1.17

Распределение длины и ширины клубней показаны на рисунках 7, 8. Распределение клубней по вытянутости показано на рисунке 9.

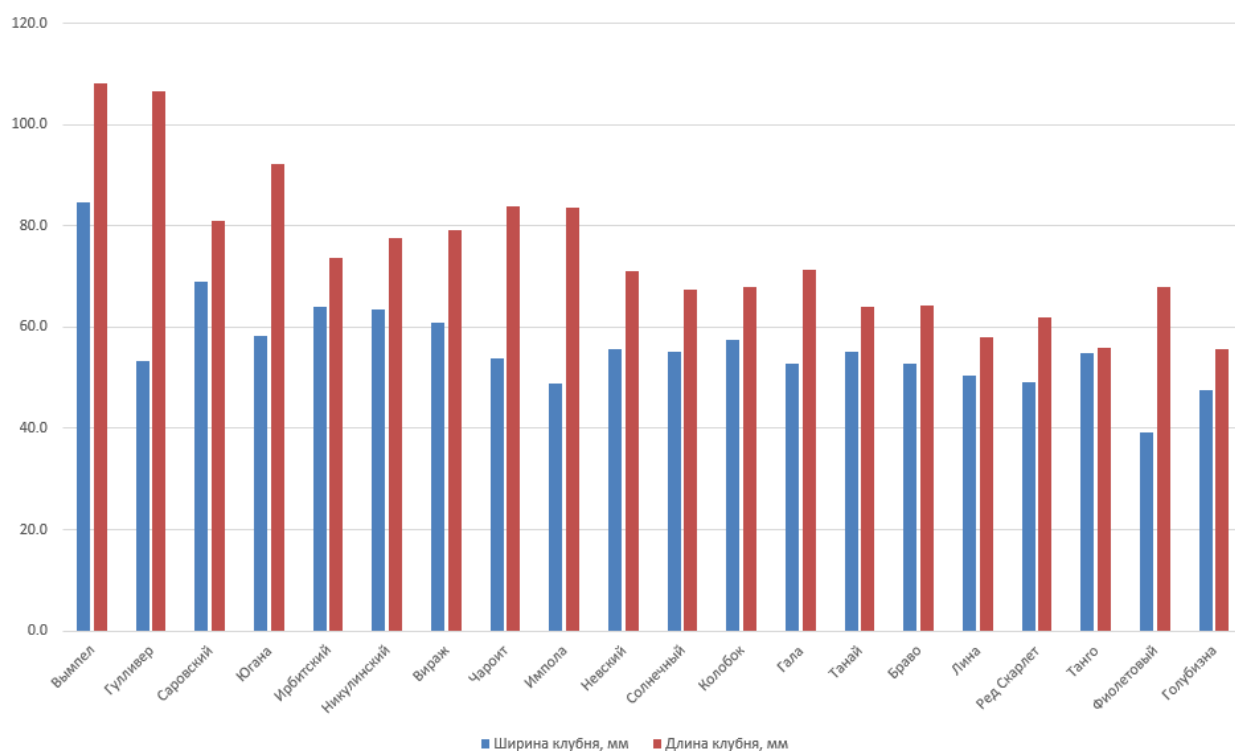


Рисунок 7 – Распределение длины и ширины клубней для анализируемых сортов (сорта ранжированы по убыванию площади клубней на изображении слева направо)

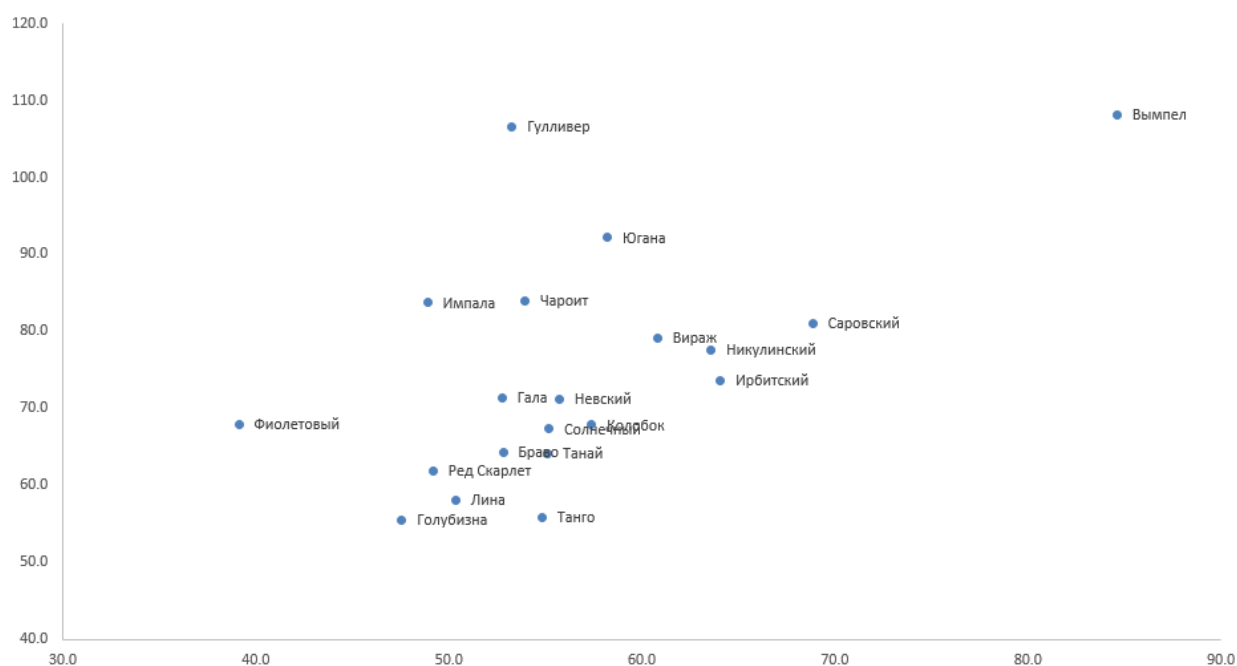


Рисунок 8 – Диаграмма рассеяния изученных сортов клубней по ширине (ось X) и длине (ось Y)

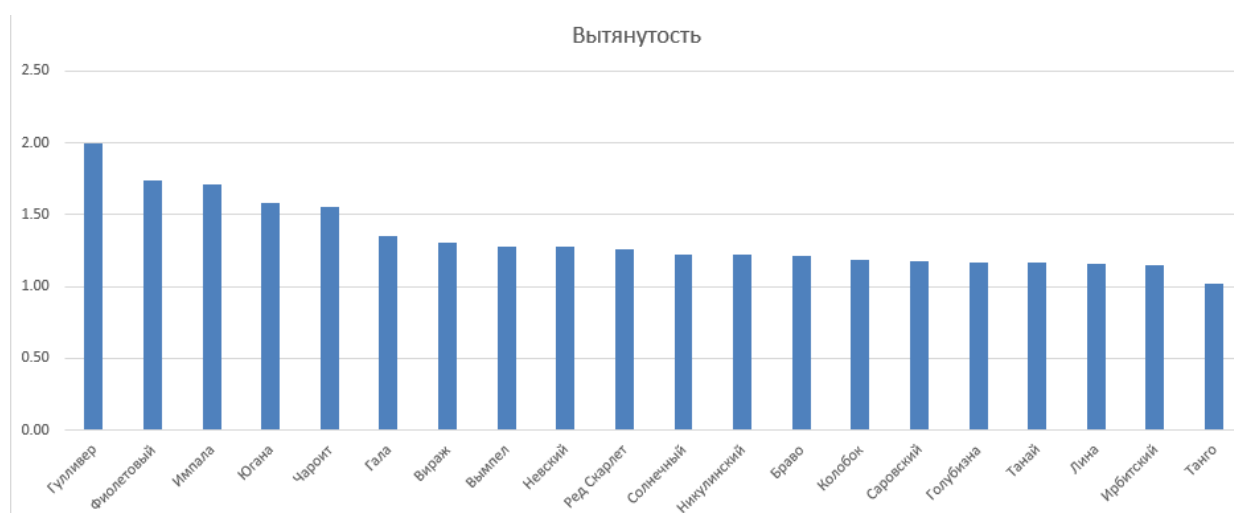


Рисунок 9 – Распределение вытянутости клубней для анализируемых сортов

По площади изображения наибольшие размеры были выявлены для клубней сортов Вымпел, Гулливер, Саровский. Наименьшее у сортов Голубизна, Фиолетовый, Танго. Наиболее вытянутыми оказались клубни сорта Гулливер, Фиолетовый. Интересно, что в описании сортов они характеризуются как «удлиненно-овальный». Среди наименее вытянутых клубней – сорта Танго (характеризуются как «округлый»), Голубизна («овально-округлый»), и Танай («овальный»).

Таким образом, предложенная методика позволяет получать количественные характеристики формы клубней картофеля.

4.8 Внесение в электронную базу коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН данных по ЭГИ-2017; разработка интерфейса для графической визуализации полученных данных; дополнение базы данных электронного ресурса описанием 50 образцов

Для хранения результатов ЭГИ была создана база данных, поля которой соответствуют разделам, зафиксированным в протоколе проведения ЭГИ. Была разработана программа импорта данных из таблиц Excel для заполнения БД. Данные доступны на сайте <http://potatoes.biores.cytogen.ru/node/1324>.

Внешний вид страницы, отображающий данные по месту проведения ЭГИ на примере ВНИИКХ им. Лорха, показан на рисунке 10.

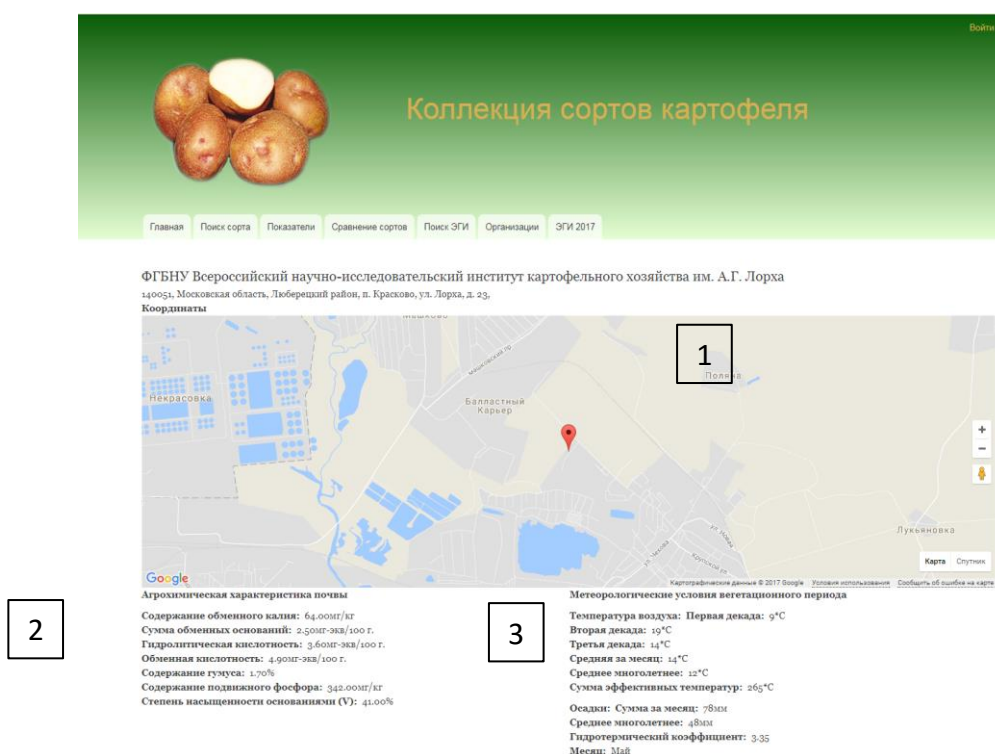


Рисунок 10 – Внешний вид страницы, отображающий данные по месту проведения ЭГИ на примере ВНИИКХ им. Лорха: 1 – поле отображения участка на карте Яндекс; 2 – поле отображения характеристик почвы для участка; 3 – поле отображения информации о климатических характеристиках участка

Результаты ЭГИ сгруппированы по основным типам данных:

- Лабораторное тестирование сортообразцов
- Пригодность клубней к хранению и переработке
- Результаты визуального учета болезней на растениях
- Результаты определения биохимического состава клубней

- Результаты оценки столовых качеств и кулинарного типа сортов
- Результаты учета болезней и дефектов клубней в послеуборочных пробах
- Результаты учета урожая сортообразцов
- Результаты фенологических наблюдений и учетов

Внешний вид отображения результатов по учету урожая сортообразцов показан на рисунке 11. Эта страница содержит таблицу результатов измерений и область формирования запроса для поиска сортообразцов. Данная таблица с помощью гиперссылок позволяет перейти как к описанию характеристик сорта, так и к описанию результатов измерения фенотипических характеристик для этого сорта.

Результаты учета урожая сортообразцов

Сорт Испытательный участок Количество клубней И

Масса Средняя масса клубня

Товарность Урожайность

Применить

Сорт	Количество клубней	Масса	Средняя масса клубня	Товарность	Урожайность	Перейти
Югана	17шт./куст	1013.00г/куст	60.00г.	83.00%	44.60т/га	Перейти
Фиолетовый	14шт./куст	725.00г/куст	52.00г.	80.00%	31.80т/га	Перейти
Танго	9шт./куст	820.00г/куст	91.00г.	81.00%	36.10т/га	Перейти
Солнечный	17шт./куст	1385.00г/куст	81.00г.	91.00%	60.90т/га	Перейти
Ирбитский	10шт./куст	1118.00г/куст	112.00г.	98.00%	49.20т/га	Перейти

Рисунок 11 – Внешний вид страницы, отображающий данные по месту проведения ЭГИ на примере ВНИИКХ им. Лорха: 1 – поле отображения участка на карте Яндекс; 2 – поле отображения характеристик почвы для участка; 3 – поле отображения информации о климатических характеристиках участка

Разработанные базы данных и интерфейс к ним через Интернет позволяют накапливать информацию о существующих сортах картофеля, их характеристиках, производителях этих сортов, а также о результатах испытания этих сортов в различных эколого-географических условиях.

Таким образом, за отчетный период в соответствии с планами в электронную базу коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН внесены данные по ЭГИ-2017, разработан интерфейс для графической визуализации полученных данных.

Также база данных электронного ресурса коллекции «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН (http://www.biores.cytogen.ru/icg_sb_ras_pln) дополнена описанием 50 образцов (25 сортами и линиями, из числа проходящих ЭГИ в 2017 году, а также 25 сортами коллекции ГенАгро).

4.9 Пополнение коллекции не менее 15 новыми образцами для проведения геномных исследований; вычленение меристем данных образцов и засев в культуральную среду

В связи с тем, что коллекция «ГенАгро» в первую очередь предназначена для разработки генетических технологий маркер-ориентированной и геномной селекции сельскохозяйственных растений и проведения фундаментальных исследований в области генетики сельскохозяйственных растений, актуальным является ее пополнение новыми образцами, предназначенными для проведения геномных исследований. За отчетный период в соответствии с планами было произведено пополнение коллекции «ГенАгро» 15 новыми образцами картофеля (таблица 5). Введение образцов проводилось в соответствии с СОП «Введение новых образцов в коллекцию оздоровленных сортов картофеля *in vitro*» (Приложение Д). Образцы диких видов картофеля в виде микроклубней были получены из коллекции ВИР. Цель их введения в коллекцию «ГенАгро» – проведение дальнейших геномных исследований (поиск и секвенирование аллельных вариантов генов-мишеней для геномного редактирования). Образцы подбирались из числа потенциальных доноров генов устойчивости к заболеваниям картофеля, но обладающие при этом различным уровнем клубнеобразования и содержанием гликоалкалоидов. Потенциальными генами-мишенями этих образцов для дальнейшего нокаута с помощью геномного редактирования будут гены, контролирующие слабое клубнеобразование, и гены, контролирующие высокое содержание гликоалкалоидов. Нокаут этих генов будет способствовать улучшению свойств образцов диких видов картофеля – доноров для селекции, освобождая их от нежелательных для селекции признаков, которые нередко передаются совместно с устойчивостью к патогенам из-за тесного сцепления желательных и нежелательных генов.

Таблица 5 – Введенные в *in vitro* коллекцию картофеля образцы диких видов

№ п/п	Вид	Номер в каталоге ВИР/ номер в клоновой коллекции
1	<i>S. verrucosum</i>	23015/346
2	<i>S. polyadenium</i>	24957/618
3	<i>S. pinnatisectum</i>	4455/13-3
4	<i>S. pinnatisectum</i>	4455/13-7
5	<i>S. stoloniferum</i>	3360/25-1
6	<i>S. stoloniferum</i>	3360/25-9
7	<i>S. stoloniferum</i>	3554/28-3
8	<i>S. jamesii</i>	24923/649
9	<i>S. ehrenbergii</i>	24207/715
10	<i>S. pinnatisectum</i>	21955/17-2
11	<i>S. fendleri</i>	18242/-
12	<i>S. chacoense</i>	22687/-
13	<i>S. demissum</i>	15176/34
14	<i>S. tarijense</i>	12637/14-1
15	<i>S. commersonii</i>	21355/-

4.10 Подготовка статей в рецензируемых журналах

В соответствии с дополнительным государственным заданием на основе материалов коллекции подготовлены две рукописи статей в рецензируемых журналах (Scopus, WoS), одна из которых уже опубликована (Приложение Б).

4.11 Подготовка календарного плана работ

Составлен календарный план работ по выполнению дополнительного государственного задания:

- создание технологического паспорта коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН, 15.12.2017;
- оформление технологического паспорта коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН на интернет-сайте коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН, 25.12.2017;
- эколого-географические испытания (ЭГИ) на территории Новосибирской области 50 сортов целевой коллекции картофеля, сформированной для ЭГИ-2017 (по Протоколу, утвержденному на заседании по ЭГИ картофеля 04.04.2017, г. Москва, ФАНО), 30.11.2017

- описание морфометрических признаков коллекции ЭГИ картофеля по Протоколу, утвержденному на заседании по ЭГИ картофеля 04.04.2017 г., г. Москва, ФАНО, а также с помощью СОП по автоматической оценке опушения листа, 30.11.2017;
- паспортизация материала коллекции «ГенАгро» (не менее 20 сортов и гибридов картофеля) с помощью СОП, основанного на использовании микросателлитных маркеров, 30.09.2017;
- характеристика материала коллекции «ГенАгро» (не менее 20 сортов и гибридов картофеля) с помощью СОП по оценке морфологии гранул крахмала, 31.10.2017;
- характеристика материала коллекции «ГенАгро» (не менее 20 сортов и гибридов картофеля) с помощью СОП высокопроизводительного фенотипирования основных признаков клубня, 15.12.2017;
- запись результатов верификации СОПов в электронной базе коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН, 25.12.2017;
- описание результатов эколого-географических испытаний в электронном ресурсе коллективного пользования «Сетевая коллекция картофеля», 25.12.2017;
- развитие электронного ресурса коллективного пользования «Коллекция картофеля», 25.12.2017;
- оздоровление пробирочных растений образцов картофеля, поступивших в коллекцию, необходимых для проведения геномных исследований не менее 15 образцов, 15.12.2017;
- публикация в рецензируемых журналах (Scopus/WoS) двух статей, подготовленных на основе материалов коллекции, одна из которых должна быть принята в печать, 15.12.2017;
- формирование календарного плана работ по выполнению дополнительного государственного задания, 07.07.2017;
- подготовка промежуточного отчета, 30.09.2017;
- размещение отчета о проделанной работе в рамках дополнительного государственного задания на интернет-сайте коллекции с указанием ссылки на номер заключенного с ФАНО России соглашения на выполнение дополнительного государственного задания, 25.12.2017.

4.12 Размещение отчета о проделанной работе в рамках дополнительного государственного задания на интернет-сайте коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН

Отчет о проделанной работе в рамках дополнительного государственного задания размещен на интернет-сайте коллекции картофеля «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН с указанием ссылки на номер заключенного с ФАНО России соглашения на выполнение дополнительного государственного задания (<http://ckp.icgen.ru/plants/documents/>).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

«Коллекция генотипов сельскохозяйственных растений для проведения фундаментальных исследований в области генетики растений и разработки генетических технологий маркер-ориентированной и геномной селекции» ИЦиГ СО РАН содержит более 430 образцов картофеля, из них 253 образца в культуре *in vitro*. Представленная работа направлена на расширение и развитие биоресурсной коллекции и на экспериментальную верификацию методик поддержания коллекции. В рамках работы создан технологический паспорт коллекции, включающий в себя описание частичного набора части ключевых СОПов и научно-техническое обоснование смет СОПов коллекции. Также проведена экспериментальная верификация некоторых СОПов, пополнен электронный каталог коллекции, находящийся на Портале биоресурсных коллекций (http://www.biores.cytogen.ru/brc_plants/collections/ICG_SB_RAS_PLN), внесены данные по ЭГИ за 2017 год, получены данные по идентификационным паспортам, получены данные по морфологии гранул крахмала, получены данные по морфологии клубней с использованием метода анализа цифровых изображений, коллекция пополнена новыми образцами и требуемые документы размещены на интернет-сайте коллекции (<http://ckp.icgen.ru/plants/documents/>). По результатам подготовлены 2 публикации в журнале, индексируемом в Scopus/WoS.

Таким образом, проведенная в рамках государственного задания работа позволяет решать на базе коллекции «ГенАгро» задачи как исследовательские, так и прикладные в рамках исполнения Указа Президента Российской Федерации №350 от 21.07.2016 г. «О мерах по реализации государственной научно-технической политики в интересах развития сельского хозяйства».

Поставленные задачи выполнены в полном объеме.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Афонников Д.А., Генаев М.А., Дорошков А.В., Комышев Е.Г., Пшеничникова Т.А. Методы высокопроизводительного фенотипирования растений для массовых селекционно-генетических экспериментов. Генетика. 2016. Т. 52. С. 788-803.
- 2 Хлесткин В.К., Пельтек С.Е., Колчанов Н.А. Гены-мишени для получения сортов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) с заданными свойствами крахмала // Сельскохозяйственная биология. 2017. 52. С. 25-36.
- 3 Колобова О.С., Малюченко О.П., Шалаева Т.В., Шанина Е.П., Шилов И.А., Алексеев Я.И., Велишаева Н.С. Генетическая паспортизация картофеля на основе мультиплексного анализа 10 микросателлитных маркёров // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. Т. 21. № 1. С.124-127.
- 4 Bruskiewich R. M., Cosico A. B., Eusebio W., et al. Linking genotype to phenotype: the international rice information system (IRIS) //Bioinformatics. 2003. Т. 19. С. i63-i65.
- 5 Genaev M.A., Doroshkov A.V., Pshenichnikova T.A., Kolchanov N.A., Afonnikov D.A. Extracting quantitative characteristics of wheat leaf hairiness using image processing technique // Planta. 2012. V. 236. P. 1943-1954.
- 6 Дорошков А.В., Генаев М.А., Афонников Д.А. Протокол анализа количественных характеристик опушения листа картофеля // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Т. 20. С. 863-868.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Результаты эколого-географического испытания сортообразцов картофеля

Место проведения исследований

Сибирский регион – СибНИИРС, филиал ИЦиГ СОРАН

630501 Новосибирская область,

Новосибирский район, р.п. Краснообск, ул. С-100, здание 21

Опытный участок находится в п. Мичуринский Новосибирского района

Схема полевых испытаний сортообразцов

- Количество рядков для каждого генотипа 2
- Количество растений в рядке 10 шт.
- Длина рядков 3 м
- Расстояние между рядами 0,75 м
- Расстояние между растениями в рядах 0,30 м
- Расстояние между повторностями 2 м
- Повторность трёхкратная
- Способ посадки – вручную по бороздам, заделка борозд боронами
- Срок посадки третья декада мая

А.1 Агрохимическая характеристика почвы испытательного участка

Таблица А.1 – Агрохимическая характеристика почвы на испытательном участке

Слой почвы, см	Показатель	Гумус	рН	N-NO ₃ , мг/г	P ₂ O ₅ , мг/кг		K ₂ O	Нг, сумма поглощенных оснований, мг экв/100г почвы	S сумма поглощенных оснований, мг экв/100г почвы	V Степень насыщенности почв основаниями
					По методу Чирикова	По методу Карпинского				
0-20	Содержание	2,67	5,6	7,3	487	5,14	110	3,23	24,19	88,2
	Обеспеченность	Низкая	Близкая к нейтральной	Очень низкая	Очень высокая	Очень высокая	Средняя	–	Высокая	Повышенная
20- 40	Содержание	2,67	5,45	12,7	456	5,14	103	3,19	23,52	88
	Обеспеченность	Низкая	Слабо кислая	Низкая	Очень высокая	Очень высокая	Средняя	–	Высокая	Повышенная

Установлено низкое потенциальное плодородие почвы. Содержание гумуса низкое. Реакция почвенного раствора близкая к нейтральной и слабокислая. По эффективному плодородию почва отмечается высоким содержанием только фосфора. Обеспеченность почвы нитратным азотом и обменным калием очень низкая и средняя, соответственно. Поэтому в почву были внесены азотсодержащие и калийные удобрения.

А.2 Метеорологические условия вегетационного периода

Таблица А.2 – Метеорологические условия вегетационного периода 2017 года

Месяц	Средняя температура, °С						Осадки, мм			ГТК
	1 декада	2 декада	3 декада	За месяц	Многолетняя	Сумма эффективных температур	Сумма за месяц	Сред. многолет.	% к ср. многол.	
Май	8,7	12,3	16,4	12,6	10,9	197,6	34	37	92	1,7
Июнь	16,5	20	21,5	19,3	16,9	576	72	55	131	1,2
Июль	17,8	17,8	19,8	18,5	19,4	1004	100	61	150	1,0
Август	20,1	14	16,5	16,8	16,2	1408	66	67	98	0,5
За вегетацию				16,8	15,8	3182/2988	272	220	124	1,1

В условиях Западной Сибири (Новосибирская область) климат резко континентальный и представляет чередование достаточно благоприятных лет со стрессовыми периодами с повышенными температурами и даже суховейными явлениями, как в 2016 году и годами с высоким переувлажнением, как в 2017 году.

Среднесуточная температура за вегетацию 2017 года была выше на 1 °С. Особенно высокая температура отмечена во 2-й и 3-й декаде июня. Она на 2,4 °С превысила среднюю многолетнюю температуру месяца, а по этим декадам на 3,1 и 4,6 °С. Это привело к развитию вирусных заболеваний на посадках картофеля. Недостаток влаги в первую декаду развития растений (посадка 23 мая) привели к задержке нарастания вегетативной массы растений. В целом влагообеспеченность превысила среднюю многолетнюю на 24%, а в июне и июле на 31 и 50 %. Достаточно высокие ночные температуры июля и высокая влажность привели к эпифитотивному развитию бактериозов и фитофтороза на растениях картофеля и клубнях во время хранения.

А.3 Фенологические наблюдения и учеты

Таблица А.3 – Результаты фенологических наблюдений и учетов

Сорт		Фенология, число дней						Куст	
		число растений	посадка-всходы	посадка-бутонизация	посадка-цветение	% жив. Пыльцы (на основе окрашивания ацетилкармином)	ягодобразование	высота	количество стеблей
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Метеор	20х3	20	34	41	30	5	80	6
2	Самба (3-23-2)	20х3	20	34	47	85	3	75	4
3	Чароит	20х3	20	36	51	15	1	60	6
4	Антонина	20х3	22	36	53	20	1	100	4
5	Арлекин	20х3	24	38	57	85	3	90	6
6	Бабушка	20х3	24	38	57	80	3	85	4
7	Г.3-43-6	20х3	22	36	50	65	9	85	4
8	Г.3-43-2	20х3	24	34	59	55	1	75	5
9	Г.25/861	20х3	26	38	43	20	3	55	5
10	Жуковский ранний	20х3	20	28	41	50	1	80	5
11	Импала	20х3	22	36	оп бут	60	3	60	4
12	Крепыш	20х3	22	32	41	60	9	70	4
13	Ломоносовский	20х3	20	32	51	70	9	70	4
14	Любава (ВНИИКХ)	20х3	20	34	39	90	7	70	3
15	Любава (КемНИИСХ)	20х3	22	36	41	80	7	65	3
16	Люкс	20х3	20	36	41	80	7	65	5
17	Матушка	20х3	20	34	51	50	1	80	5
18	Ред Скарлет	20х3	22	38	51	40	3	60	4
19	Регги	20х3	20	36	41	50	9	70	7
20	Саровский	20х3	22	36	51	30	3	105	4
21	Старт	20х3	20	31	41	85	9	80	5
22	Удача	20х3	20	36	51	50	7	75	5

Продолжение таблицы А.3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
23	Юна	20х3	20	34	51	50	7	50	3
24	Браво	20х3	22	34	46	75	7	80	4
25	Василек	20х3	24	36	45	70	3	80	6
26	Вираз	20х3	22	31	51	85	9	65	3
27	Г.21/.8516	20х3	24	31	41	10	3	75	4
28	Гала	20х3	22	36	51	85	7	65	6
29	Горняк	20х3	22	37	57	85	9	90	4
30	Гулливер	20х3	22	36	51	10	1	75	4
31	Ильинский	20х3	22	38	51	30	3	78	7
32	Кемеровчанин	20х3	20	38	55	70	9	75	4
33	Кортни	20х3	22	38	51	50	7	70	4
34	Кузнечанка	20х3	22	41	55	60	1	65	5
35	Невский	20х3	22	40	45	55	7	65	5
36	Лина	20х3	24	38	55	20	1	60	3
37	Пам.яти Рогачева	20х3	22	38	42	20	1	65	7
38	Русский сувенир	20х3	24	38	51	80	7	70	6
39	С-112-03	20х3	24	38	55	20	7	100	8
40	Сафо	20х3	22	38	55	50	1	60	5
41	Сударыня	20х3	22	38	47	30	1	50	5
42	Танай	20х3	24	36	41	30	3	85	6
43	Г.06-08-2015	20х3	24	36	41	80	3	65	6
44	Великан	20х3	26	38	57	50	7	95	5
45	Вымпел	20х3	22	34	38	80	9	65	4
46	Голубизна	20х3	22	34	41	20	1	95	3
47	Гусар	20х3	26	38	57	20	1	80	4
48	Жигулевский	20х3	22	34	37	70	7	103	6
49	Златка	20х3	26	36	41	60	7	107	6
50	Ирбитский	20х3	22	34	38	90	9	85	3
51	Колобок	20х3	22	34	38	10	3	100	4

Окончание таблицы А.3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
52	Накра	20х3	24	36	47	10	1	110	4
53	Никулинский	20х3	22	34	38	50	7	85	4
54	Солнечный	20х3	24	38	55	80	9	78	4
55	Танго	20х3	26	38	51	45	7	85	6
56	Тулеевский	20х3	26	38	55	50	9	65	4
57	Фаворит	20х3	24	36	41	40	3	70	6
58	Фиолетовый	20х3	26	38	42	40	9	80	8
59	Фрителла	20х3	26	38	51	70	9	80	5
60	Югана	20х3	26	38	57	50	7	72	5

Фенологические фазы развития у различных групп спелости проходили с разностью 2-4 дня: фаза всходов у очень ранних и ранних сортов наступала через 20-22 дня после посадки, у среднеранних через 22-24, а у среднеспелых – среднепоздних через 22-26 дней. В такой же последовательности идет сдвиг фаз бутонизации и цветения. *Ягодообразование в баллах от 1 до 9 (1 – отсутствует, 3 – очень редкое, 5 – редкое, 6,7 – среднее, 8 – сильное, 9 – обильное). Из ранних сортов 9 образцов имеют сильное и обильное ягодообразование (5-7 б, 4-9 б). Из среднеранних сортов 6 образцов имеют 7 баллов, а 3 сорта – 9 баллов ягодообразования. У 12 среднеспелых и среднепоздних образцов отмечено сильное и обильное ягодообразование (6-7 б, 6-9 б). Высокая фертильность пыльцы не всегда совпадает с высоким баллом ягодообразования. Высота куста зависит не только от сорта, но и от метеорологических условий вегетации. Наиболее высокие кусты в 2017 году были у сортообразцов Антонина, Саровский, С112-03, Жигулевский, Златка, Колобок и Накра от 100 см у Антонины, Колобка и С112-03 до 107 см у Златки. Высота 80–95 см была у 19 образцов, 60–75 см у 29 образцов, а высотой 50–55 см выросли Г-25/861, Юна и Сударыня.

А.4 Визуальный учет болезней на растениях

Таблица А.4 – Результаты визуального учета болезней на растениях, 2017 г.

п/п	Образец	Фитофтороз, балл			Альтерариоз, балл, 11.08	Вирусные, % (крапчат.)	Белая ножка
		31.07.2017	11.08.2017	17.08.2017			
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Метеор	9	5	3	3	0	+
2	Самба (3-23-2)	7	3	3	7	0	+
3	Чароит	9	5	3	5	0	+
4	Антонина	9	5	5	5	0	+
5	Арлекин	9	7	7	7	100	+
6	Бабушка	9	5	5	7	100	+
7	Г.3-43-6	9	7	6	7	1 м/м	+
8	Г.3-43-2	9	7	6	5	50	+
9	Г.25/861	9	3	3	5	100	+
10	Жуковский ранний	5	5	3	7	100	+
11	Импала	9	3	1	5	100	+
12	Крепыш	9	7	6	5	50	—
13	Ломоносовский	9	5	5	8	0	+
14	Любава (ВНИИКХ)	8	5	5	7	80	+
15	Любава (КемНИИСХ)	8	5	6	7	80	+
16	Люкс	7	3	1	7	0	+
17	Матушка	9	9	8	7	0	—
18	Ред Скарлет	9	3	3	7	100	—
19	Регги	8	3	3	7	0	—
20	Саровский	9	7	3	5	100	+
21	Старт	8	5	3	7	0	+
22	Удача	9	7	7	7	0	—
23	Юна	7	5	3	5	100	+
24	Браво	9	3	3	7	100	+

Продолжение таблицы А.4

1	2	3	4	5	6	7	8
25	Василек	9	5	3	5	0	+
26	Вираз	7	3	1	5	0	+
27	Г.21/.8516	8	3	1	5	100	—
28	Гала	9	3	3	5	0	—
29	Горняк	9	7	5	7	100	+
30	Гулливёр	9	3	3	5	100	—
31	Ильинский	8	3	3	7	100	+
32	Кемеровчанин	9	7	6	7	100	+
33	Кортни	9	5	5	5	0	+
34	Кузнечанка	9	9	7	5	100	+
35	Невский	9	9	7	5	0	+
36	Лина	9	7	6	7	0	+
37	Памяти Рогачева	9	5	3	5	100	-
38	Русский сувенир	9	7	6	7	100	+
39	С-112-03	9	7	6	7	0	-
40	Сафо	9	7	6	7	0	+
41	Сударыня	9	3	1	5	100	—
42	Танай	9	7	6	7	100	—
43	г.06-08-2015	9	5	3	7	100	—
44	Великан	9	7	6	7	0	—
45	Вымпел	9	5	3	5	100	—
46	Голубизна	9	7	6	5	0	—
47	Гусар	9	9	9	7	0	—
48	Жигулевский	9	7	5	5	0	—
49	Златка	9	7	6	7	0	—
50	Ирбитский	9	5	3	7	0	—
51	Колобок	9	7	6	7	100	—
52	Накра	9	7	6	5	0	—
53	Никулинский	9	7	7	7	100	—

Окончание таблицы А.4

1	2	3	4	5	6	7	8
54	Солнечный	9	7	5	5	0	—
55	Танго	9	7	7	7	0	—
56	Тулеевский	9	5	5	7	0	—
57	Фаворит	9	5	3	5	100	-
58	Фиолетовый	9	7	5	7	0	-
59	Фрителла	9	9	9	7	0	-
60	Югана	9	8	7	5	0	-

Высокие температуры в начале вегетации вызвали сильное развитие вирусных заболеваний. Практически 50% испытуемых образцов были поражены крапчатостью (мягкая мозаика, вызванная вирусами Х и S) от 50 до 100%.

Вегетационный период 2017 года характеризовался эпифитотийным развитием фитофтороза. Первые признаки поражения растений фитофторозом были отмечены 31 июня на Жуковском раннем до 6 баллов; на сортах Самба, Люкс, Юна и Вираз до 7 баллов; на образцах Любава, Регги, Старт, Г.21/8516 (ВИР) и Ильинский до 8 баллов. Через 2 недели сортообразцы Самба, Импала, Люкс, Ред Скарлет, Регги, Вираз, Гала, Гулливер, Ильинский, Сударыня и гибриды 25/861, 21/8516 поразились на 3 балла. Оценка перед скашиванием ботвы показала проявление фитофторы на 3 балла у 19 образцов, а у сортообразцов Импала, Люкс, Вираз, Сударыня и Г 21/8516 поражение было на 1 балл (полная гибель ботвы). Только сорта Гусар и Фрителла были иммунными к фитофторе.

А.5 Лабораторное тестирование сортообразцов ИФА

Таблица А.5 – Результаты лабораторного теста сортообразцов по листовым пробам на основе ИФА диагностики

№ п/п	Образец	X	S	M	L	Y
1	2	3	4	5	6	7
1	Метеор	0	0	0	0	0
2	Самба	0	0	0	0	0
3	Чароит	0	0	0,07	0	0,03
4	Антонина	0	0	0	0	0
5	Арлекин	0	0	0,11	0	0
6	Бабушка	0	0	0,19	0	0
7	Г. 3-43-6	—	—	—	—	—
8	Г.3-43-2	—	—	—	—	—
9	Г. 25/861	—	—	—	—	—
10	Жуковский ранний.	0	0	0	0	0,06
11	Импала	0	0	0,12	0	0
12	Крепыш	0	0	0	0	0
13	Ломоносовский	0	0	0	0	0
14	Любава (ВНИИКХ)	0	0	0	0	0
15	Любава (КемНИИСХ)	1,74	0	1,87	0	0
16	Люкс	0	0	0	0	0
17	Матушка	0	0,05	0,08	0	0
18	Ред Скарлет	0	0	0	0	0
19	Регги	0,29	0	0	0	0
20	Саровский	1,01	0	0	0	0
21	Старт	0	0	0	0	0
22	Удача	0	0	0	0	0
23	Юна	0	0	0	0	0
24	Браво	0	0	0	0	0

Продолжение таблицы А.5

1	2	3	4	5	6	7
25	Василек	0	0	0	0	0
26	Вираз	0,27	0,05	0	0	0,07
27	Г.21/8516	—	—	—	—	—
28	Гала	0	0	0	0	0
29	Горняк	0	0	0,09	0	0
30	Гулливёр	0	0	0,08	0	0
31	Ильинский	0	0	0	0	0
32	Кемеровчанин	0	0	0,07	0	0
33	Кортни	0	0	0	0	0
34	Кузнечанка	0	0	0	0	0
35	Ст. Невский	1,03	0	0	0	0,22
36	Лина	0	0	0	0	0
37	Памяти Рогачева	0	0	0	0	0
38	Русский сувенир	0	0	0	0	0
39	С-112-03	—	—	—	—	—
40	Сафо	0	0	0	0	0
41	Сударыня	0	0	0	0	0
42	Танай	0	0	0	0	0,07
43	Г.06-8-2015	—	—	—	—	—
44	Великан	0	0	0	0	0
45	Вымпел	0	0	0	0	0
46	Голубизна	0	0	0	0	0
47	Гусар	0	0	0,08	0	0
48	Жигулевский	0	0	0	0	0
49	Златка	0	0,73	1,07	0	0
50	Ирбитский	0	0	0,16	0	0

Окончание таблицы А.5

1	2	3	4	5	6	7
51	Колобок	0	0	0	0	0
52	Накра	0	0	0	0	0
53	Никулинский	0,22	0,72	0	0	0
54	Солнечный	0,27	0	0	0	0
55	Танго	0	0	0	0	0
56	Тулеевский	0	0	0	0	0
57	Фаворит	0	0	0	0	0
58	Фиолетовый	0	0	0	0	0
59	Фрителла	0	0	0	0	0
60	Югана	0,28	0	0	0	0

Примечание – «0» – отсутствие вирусов; «—» – отсутствие тестирования. При коэффициенте экстинкции 0,03-0,09 наличие вирусов в исследуемых растениях очень низкое на уровне следов (Чароит, Жуковский ранний, Матушка, Горняк, Гулливер, Кемеровчанин, Танай, Гусар). Наличие коэффициента экстинкции от 0,11 до 0,28 (незначительное накопление вирусов): Арлекин, Бабушка, Импала, Регги, Вираз, Солнечный, Югана. Коэффициент экстинкции от 0,7 до 1,87 (значительное наличие вирусов в растении): Любава (КемНИИСХ), Саровский, Невский, Златка. Следы накопления жесткого вируса «У» выявленные методом ИФА на сортах Чароит, Жуковский ранний, Вираз, Невский, Танай

А.6 Учет урожая сортообразцов

Таблица А.6 – Результаты учета урожая в динамике (копка через 60 дней после посадки (23.05), через 75 дней и во время уборки – 02 сентября)

№ п/п	Образец	Клубни через 60 дней 21.07.2017			Товарность, %	Клубни через 75 дней 07.08.2017			Товарность, %	Клубни в уборку 03.09.2017			Товарность, %
		Средний		Вес 1.кл г.		Средний		Вес 1кл. г.		Средний		Вес 1 кл. г.	
		шт./ куст	г/куст			шт./ куст	г/куст			шт./ куст	вес г/куст		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	Метеор	11	803	70	95	12	900	75	84	12	1294	108	93
2	Самба (3-23-2)	12	853	71	90	12	960	80	87	12	1175	98	76
3	Чароит	11	608	55	93	12	933	78	91	12	986	82	94
4	Антонина	13	467	36	88	14	758	54	76	14	875	63	79
5	Арлекин	10	350	35	87	14	700	50	93	14	1057	76	96
6	Бабушка	10	300	30	69	14	825	59	86	14	1013	72	91
7	Г. 3-43-6	10	275	27	79	15	1083	72	92	15	1072	71	94
8	Г.3-43-2	7	258	37	82	17	1125	66	93	17	1188	70	92
9	Г. 25/861	12	108	10	0	17	258	15	19	17	300	18	0
10	Жуковский ранний	10	575	38	95	10	928	93	97	10	1375	138	92
11	Импала	12	517	44	91	12	767	64	50	12	988	82	54
12	Крепыш	6	250	42	91	10	633	63	92	10	1206	121	92
13	Ломоносовский	10	500	50	92	12	1058	88	97	12	1036	86	95
14	Любава (ВНИИКХ)	11	495	45	91	12	920	77	98	12	1336	111	89
15	Любава (КемНИИСХ)	12	492	42	86	12	772	64	95	12	1029	86	91
16	Люкс	10	562	57	96	10	1100	110	99	10	1406	141	97
17	Матушка	10	458	44	89	11	650	59	97	11	869	79	85
18	Ред Скарлет	8	200	24	50	10	517	52	99	10	771	77	91

Продолжение таблицы А.6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
19	Регги	11	650	58	91	13	1042	77	88	13	1250	96	97
20	Саровский	8	480	57	97	12	1033	86	100	12	1120	93	96
21	Старт	7	433	67	97	9	795	88	100	9	975	108	94
22	Удача	11	650	58	95	11	875	80	97	11	1328	121	94
23	Юна	9	608	69	93	10	867	87	98	10	929	93	94
24	Браво	14	458	32	86	16	1175	73	95	16	1243	104	94
25	Василек	15	250	17	62	19	825	43	96	19	969	51	92
26	Виращ	10	600	58	96	12	1050	87	97	12	1263	105	94
27	Г.21/8516	12	392	32	86	13	700	54	93	13	856	66	91
28	Гала	17	608	36	87	17	950	56	93	17	1075	63	85
29	Горняк	11	400	37	92	11	858	78	98	11	1028	93	95
30	Гулливер	10	592	60	93	12	933	78	98	12	1138	95	95
31	Ильинский	16	617	39	86	17	1183	70	96	17	1231	72	94
32	Кемеровчанин	10	592	60	92	14	892	64	95	14	929	66	92
33	Кортни	10	360	36	91	11	783	72	98	11	969	88	94
34	Кузнечанка	17	367	22	68	17	775	45	87	17	814	48	85
35	Невский	10	567	55	94	12	792	66	96	12	1244	104	92
36	Лина	11	417	38	81	15	867	58	96	15	1122	75	91
37	Памяти Рогачева	10	593	58	95	13	1008	77	100	13	1225	94	95
38	Русский сувенир	16	470	30	80	16	858	54	98	16	997	62	93
39	С-112-03	17	415	24	79	18	833	46	95	18	1263	70	95
40	Сафо	17	393	24	76	17	850	50	96	17	1172	69	93
41	Сударыня	13	583	45	90	14	825	59	95	14	979	58	95
42	Танай	12	500	42	96	14	1153	82	99	14	1338	96	90
43	Г.06-08-2015	15	467	31	75	15	1033	69	96	15	1194	80	91
44	Великан	14	292	21	67	14	900	64	98	14	1288	92	96

Окончание таблицы А.6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
45	Вымпел	13	275	21	90	14	983	70	96	14	1256	90	95
46	Голубизна	14	367	27	81	16	1183	74	96	16	1275	80	87
47	Гусар	11	303	29	74	15	983	66	94	15	1100	73	97
48	Жигулевский	10	525	51	92	13	808	62	96	13	1053	81	94
49	Златка	21	400	20	52	25	1250	50	96	25	1444	58	93
50	Ирбитский	11	308	28	93	11	733	67	97	11	944	86	93
51	Колобок	10	470	47	92	11	987	90	97	11	1025	93	97
52	Накра	12	345	28	82	13	683	52	92	13	1019	78	91
53	Никулинский	13	453	36	84	14	703	50	85	14	1213	87	88
54	Солнечный	11	400	36	87	12	800	67	97	12	1047	87	76
55	Танго	14	212	15	64	15	700	47	90	15	825	55	87
56	Тулеевский	13	370	30	78	19	1225	64	91	19	1328	70	90
57	Фаворит	12	508	42	89	17	950	56	93	17	1131	67	93
58	Фиолетовый	20	272	13	41	20	500	25	87	20	720	36	80
59	Фрителла	11	382	34	88	12	700	58	85	12	1057	88	96
60	Югана	12	442	35	90	17	950	56	94	17	1150	68	88

А.7 Анализ раннего и продуктивного урожая очень ранних и ранних сортов

Из 22 сортов 17 имеют очень ранний урожай выше 150 ц/га. 9 свыше 200 ц/га, а Метеор и Самба 280 и 298 ц/га. По раннему урожаю (75 дней п/посадки) выше 300 ц/га у 14 сортов, а Ломоносовский, Люкс, Регги, Саровский и гибриды ТатНИИСХ – 3-43-2 и 3-43-6 выше 350 ц/га. Продуктивность 14 сортообразцов ранних групп спелости достигла от 360 ц/га у Любавы (КемНИИСХ) до 492 ц/га у сорта Люкс (УралНИИСХ) (таблица А.7).

Таблица А.7 – Результаты учета урожая в динамике (копка через 60 дней после посадки (23.05), через 75 дней и во время уборки – 02 сентября) для очень ранних и ранних сортов

Сорт	Урожай г/куст, п/посадки		
	60 дн.	75 дн.	Уборка
Метеор	803	900	1294
Самба (3-23-2)	853	960	1175
Чароит	608	933	986
Гулливёр	592	933	1138
Антонина	467	758	875
Г.3-43-6	275	1083	1072
Г.3-43-2	258	1125	1188
Г.25/861	108	258	300
Жуковский ран	575	928	1375
Импала	517	767	988
Крепыш	250	633	1206
Ломоносовский	500	1058	1036
Любава (Мос)	495	920	1336
Любава (Кем)	492	772	1029
Люкс	562	1100	1406
Матушка	458	650	869
Ред Скарлет	200	517	771
Регги	650	1042	1250
Саровский	480	1033	1120
Старт	433	795	975
Удача	650	875	1328
Юна	608	867	929

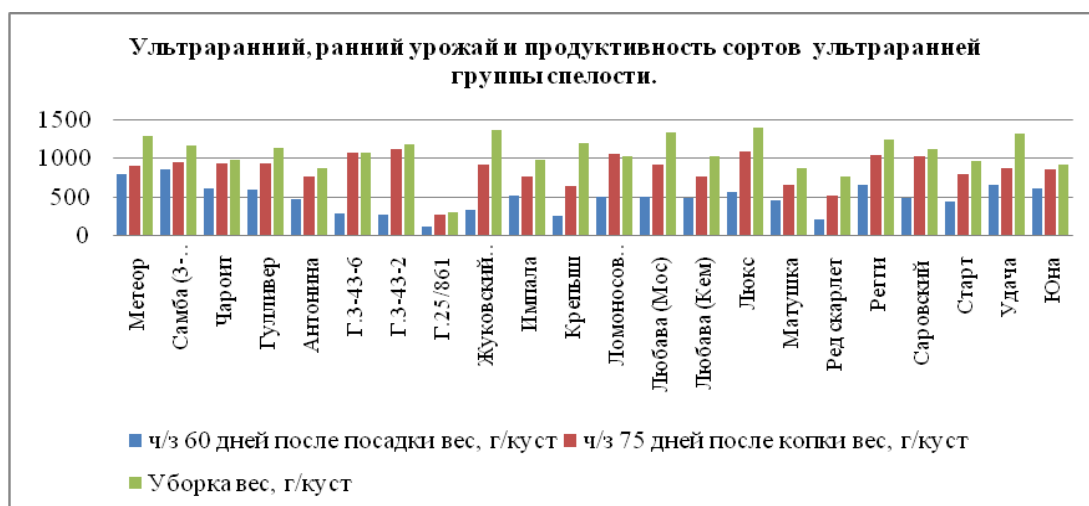


Рисунок А.1 – Распределение урожайности в динамике (копка через 60 дней после посадки (23.05), через 75 дней и во время уборки – 02 сентября) для очень ранних и ранних сортов

А.8 Анализ раннего и продуктивного урожая сортов среднеранней группы спелости

Таблица А.8 – Результаты учета урожая в динамике (копка через 60 дней после посадки (23.05), через 75 дней и во время уборки – 02 сентября) для сортов среднеранней группы спелости

Сорт	Урожай г/куст, п/посадки		
	60 дн.	75 дн.	Уборка
Бабушка	300	825	1013
Браво	458	1175	1243
Василек	250	825	969
Вираз	600	1050	1263
Г. 21.8516	392	700	856
Гала	608	950	1075
Горняк	400	858	1028
Ильинский	617	1183	1231
Кемеровчанин	592	892	929
Кортни	360	783	969
Кузнечанка	367	775	814
Невский ст.	567	792	1244
Лина	417	867	1122
Памяти Рогачева	593	1008	1225
Русский сув.	470	858	997
С-112-03	415	833	1263
Сафо	393	850	1172
Сударыня	583	825	979
Танай	500	1153	1338
Г. 06-08-2015	467	1033	1194

Из 20 сортов среднеранней группы спелости у 10 очень ранний урожай выше 150 ц/га. Величина раннего урожая (75 дней п/посадки) достигает у этих сортов 245 ц/га у Г.21/8516 (ВИР) до 414 ц/га у сорта Ильинский. Продуктивность среднеранних сортов свыше 300 ц/га. У 14 сортов она превысила 350 ц/га. У сортов Браво, Вираз, Ильинский, Невский, Памяти Рогачева, С-112-03 (СибНИИСХиТ), Сафо, Танай и Г-06-08-2015 (ВИР) продуктивность превысила 400 ц/га. Наивысшая продуктивность 468 ц/га у сорта Танай.

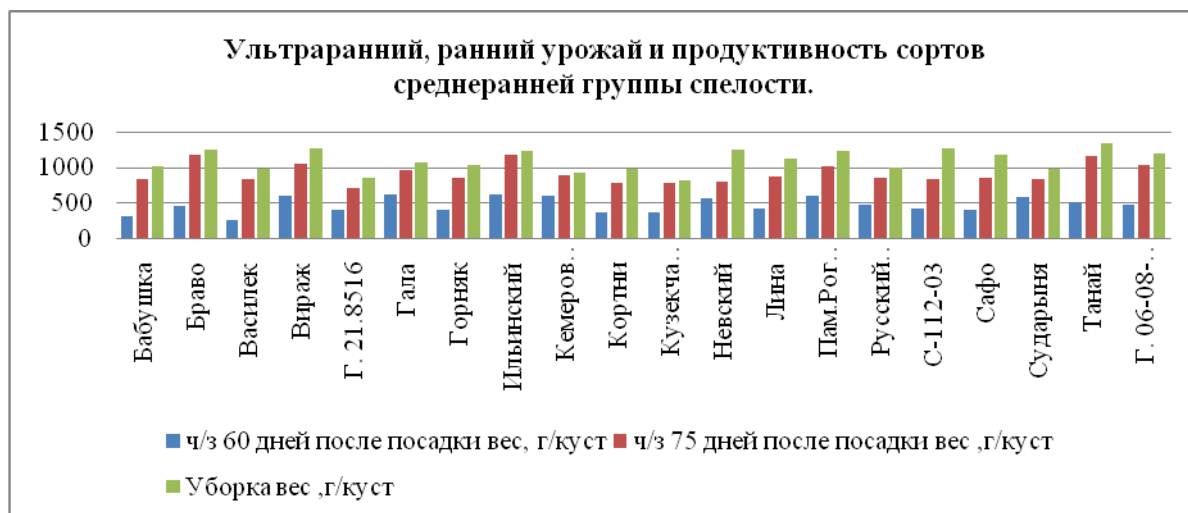


Рисунок А.2 – Распределение урожайности в динамике (копка через 60 дней после посадки (23.05), через 75 дней и во время уборки – 02 сентября) для сортов среднеранней группы спелости

А.9 Анализ раннего и продуктивного урожая сортов среднеспелой и среднепоздней групп спелости

Из 18 сортов среднеспелой и среднепоздней групп спелости только Жигулевский, Колобок, Никулинский, Фаворит и Югана имеют очень ранний урожай выше 150 ц/га. Ранний урожай (75 дней п/посадки) сортов этой группы варьирует от 175 ц/га у Фиолетового до 437 ц/га у Златки. Продуктивность этой группы спелости наивысшая по сравнению с раннеспелыми и среднеранними сортообразцами. Только у Фиолетового, Ирбитского и Танго она достигла 252-330 ц/га. Продуктивность других сортов превышала 350 ц/га. Сорта Югана, Никулинский, Вымпел, Голубизна, Великан, Тулеевский и Златка превысили 400ц/га (таблица А.9).

Таблица А.9 – Результаты учета раннего и продуктивного урожая в динамике (копка через 60 дней после посадки (23.05), через 75 дней и во время уборки – 02 сентября) для сортов среднепоздней группы спелости

Сорт	Урожай г/куст, п/посадки		
	60 дн.	75 дн.	Уборка
Арлекин	350	700	1057
Великан	292	900	1288
Вымпел	275	983	1256
Гусар	303	983	1100
Голубизна	367	1183	1275
Жигулевский	525	808	1053
Златка	400	1250	1444
Ирбитский	308	733	944
Колобок	470	987	1025
Накра	345	683	1019
Никулинский	453	703	1213
Солнечный	400	800	1047
Танго	212	700	825
Тулеевский	370	1225	1328
Фаворит	508	950	1131
Фрителла	382	700	1057
Фиолетовый	272	500	720
Югана	442	950	1150

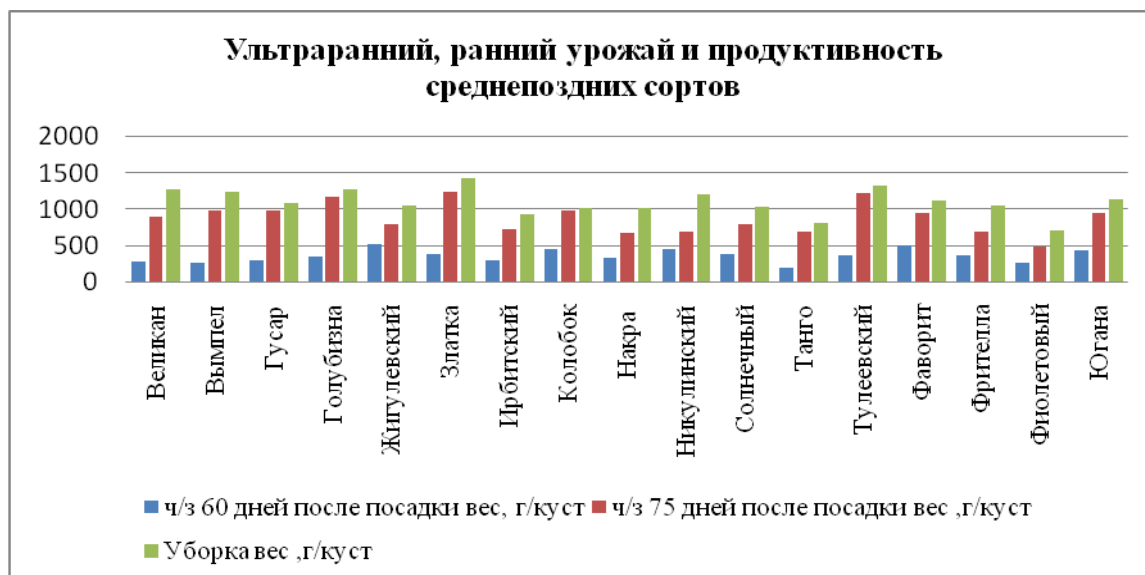


Рисунок А.3 – Распределение урожайности для раннего и продуктивного урожая в динамике (копка через 60 дней после посадки (23.05), через 75 дней и во время уборки – 02 сентября) для сортов среднепоздней группы спелости

А.10 Описание морфометрических признаков сортов картофеля

Таблица А.10 – Описание морфометрических признаков сортов картофеля эколого-географического испытания

№ п/п	Образец	Срок созревания	Окраска				Глазки		Клубень	
			клубней	мякоти	цветка	ростка	глубина	окраска	форма	кожура
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Метеор	01	Ж	Яж	Б	Бел	Сред	Ж	Ок-ов	Глад
2	Самба(3-23-2)	01	Ж	Ж	Б	Бел	Мелк	Ж	Ок-ов	Сет
3	Чароит	01	Ж	Сж	Кф	Бел	Повер	Ж	Уд-ов	Глад
4	Антонина	03	Ж	Сж	Б	Бел	Сред	Ж	Овал	Гл-сет
5	Арлекин	05	Пф	Ж	Кф	Фиол	Мелк	Фиол	Овал	Гл-сет
6	Бабушка	04	К	Ж	Кф	Бел	Мелк	Крас	Ок-ов	Глад
7	Г.3-43-6	03	Сж	Б	Б	Роз	Мелк	С.ж	Ок-ов	Гл-сет
8	Г.3-43-2	03	Ж	Б	Кф	Бел	Повер	Ж	Овал	Гл-сет
9	Г.25/861	03	К	Ж	Кф	Роз	Мелк	Крас	Ок-ов	Гл-сет
10	Жуковский ран.	03	Р	Б	Кф	Роз	Мелк	Крас	Ок-ов	Глад
11	Импала	03	Ж	Ж	Б	Бел	Мелк	Ж	Уд-ов	Глад
12	Крепыш	03	Ж	Кр	Кф	Бел	Сред	Ж	Уд-ов	Глад
13	Ломоносовский	03	Ж	Ж	Б	Бел	Сред	Ж	Ок-ов	Глад
14	Любава (ВНИИКСХ)	03	Тк	Б	Кф	Роз	Сред	Т.крас	Овал	Сетч
15	Любава (КемНИИСХ)	03	Тк	Б	Кф	Я роз	Сред	Т.крас	Овал	Сетч
16	Люкс	03	К	Ж	Кф	Я роз	Мелк	Б	Уд-ов	Гл-сет
17	Матушка	03	К	Кр	Кф	Роз	Мел	Крас	Уд-ов	Глад
18	Ред Скарлет	03	К	Ж	Кф	Роз	Повер	Б	Уд-ов	Глад
19	Регги	03	К	Сж	Кф	Бел	Мелк	Ж	Уд-ов	Глад
20	Саровский	03	К	Ж	Кф	Роз	Сред	Т.крас	Ок-ов	Гл-сет
21	Старт	03	К	Сж	Кф	Роз	Мелк	Т.крас	Ок-ов	Гл-сет
22	Удача	03	Б	Б	Б	Бел	Мелк	Б	Уд-ов	Гл-сет
23	Юна	03	Р	Сж	Б	Бел	Мелк	Роз	Уд-плоск	Гл-сет

Продолжение таблицы А.10

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
24	Браво	04	К	Сж	Кф	Бел	Сред	Б	Ок-ов	Глад
25	Василек	04	Фиол	Кр	Кф	Фиол	Мелк	Фиол	Уд-ов	Глад
26	Виращ	04	Ж	Сж	Кф	Бел	Мелк	Б	Ок-ов	Сет
27	Г.21.8561	04	Ж	Ж	Б	Бел	Мелк	Ж	Уд-ов	Глад
28	Гала	04	Ж	Ж	Б	Бел	Мелк	Б	Ок-ов	Гл-сет
29	Горняк	04	Ж	Сж	Б	Бел	Поверх	Ж	Округ	Гл-сет
30	Гулливёр	01	Ж	Кр	Кф	Бел	Сред	Крас	Уд-ов	Глад
31	Ильинский	04	К	Б	Кф	Роз	Сред	Крас	Ок-ов	Глад
32	Кемеровчанин	04	Ж	Ж	Б	Роз	Сред	Ж	Овал	Глад
33	Кортни	04	Ж	Ж	Кф	Роз	Сред	Ж	Ок-плоск	Гл-сет
34	Кузнечанка	04	К	Кр	Кф	Бел	Сред	Крас	Ок-ов	Гл-сет
35	Невский ст	04	Б	Б	Б	Бел	Мелк	Роз	Уд-ов	Глад
36	Лина	04	Ж	Ж	Б	Бел	Сред	Ж	Ок-ов	Глад
37	Пам.Рогачева	04	Ж	Сж	Б	Бел	Мелк	Ж	Ок-ов	Сет
38	Прусский сувенир	04	Ж	Ж	Кф	Бел	Мелк	Ж	Овал	Гл-сет
39	С-112-03	04	Р	Б	Кф	Роз	Мелк	Роз	Уд-ов	Глад
40	Сафо	04	Б	Б	Б	Бел	Мелк	Б	Уд-ов	Глад
41	Сударыня	04	Ж	Сж	Б	С роз	Сред	Ж	Ок-ов	Глад
42	Танай	04	Ж	Ж	Б	Бел	Мелк.	Ж	Ок-ов	Гл-сет
43	Г. 06-08-2015	04	Ж	Ж	Б	Б/роз	Мелк	Ж	Ок-ов	Гл-сет
44	Великан	05	Ж	Ж	Кф	Роз	Мелк	Роз	Ок-ов	Глад
45	Вымпел	05	Ж	Ж	Б	Бел	Мелк	Ж	Ок-ов	Глад
46	Голубизна	06	Б	Б	Син	Бел	Мелк	Б	Ок-ов	Гл-сет
47	Гусар	05	Ж	Ж	Б	Бел	Мелк	Ж	Удл	Глад
48	Жигулевский	05	Ж	Ж	Б	Бел	Мелк	Ж	Овал	Гл-сет
49	Златка	05	Ж	Сж	Б	Бел	Сред	Роз	Округ	Глад

Окончание таблицы А.10

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
50	Ирбитский	05	К	Сж	Кф	Роз	Мелк	Б	Округ	Глад
51	Колобок	05	Ж	Яж	Б	Бел	Сред	Ж	Округ	Гл-сет
52	Накра	05	К	Ж	Кф	Роз	Мелк	Я.крас	Ок-ов	Глад
53	Никулинский	06	Б	Б	Кф	Роз	Сред	Б	Ок-ов	Глад
54	Солнечный	05	Ж	Ж	Кф	Роз	Сред	Ж	Ок-ов	Глад
55	Танго	07	К	Ж	Кф	Бел	Сред	Крас	Округ	Глад
56	Тулеевский	05	Ж	Ж	Б	Бел	Повер	Ж	Уд-ов	Глад
57	Фаворит	05	Р	Кр	Кф	Бел	Повер	Роз	Уд-ов	Глад
58	Фиолетовый	05	Фиол	Ф	Кф	Фиол	Сред	Фиол	Уд-ов	Глад
59	Фрителла	05	Б	Б	Кф	Бел	Мелк	Б	Уд-ов	Глад
60	Югана	05	Ж	Сж	Кф	Роз	Мелк	Ж	Ок-ов	Гл-сет

По окраске клубня испытуемые сортообразцы делятся следующим образом: 50% – желто-клубневые (Ж) и светло-жёлтые (Сж), 25 % – красно-клубневые (К) и тёмно-красные (Тк), 13,3% – бело-клубневые (Б), 6,7% с розовыми клубнями (Р), 3,3 % с фиолетовыми (Фиол) и 1,7% с пестро-фиолетовыми клубнями (Пф). По состоянию поверхности кожуры клубня образцы разделились на гладкие (Глад) – 55%, гладко-сетчатые (Гл-сет) – 36,7% и сетчатые (Сет) – 8,3%. По окраске мякоти клубня сортообразцы делятся на желтомясые (Ж) – 66,7%, в том числе со светло-желтой мякотью (Сж) 13 образцов и ярко-жёлтой окраской (Яж) 2 образца; беломясые (Б) – 31,7%, в том числе 6 образцов с кремовой окраской мякоти (Кр), 1,6% с фиолетовым цветом мякоти (Ф). По окраске цветка: образцы разделились на красно-фиолетовые различных оттенков (Кф) – 56,7%, белые (Б) – 41,7% и синие (Син) – 1,6%. По глубине глазков испытуемые сортообразцы делятся на образцы, имеющие средней глубины глазки (Сред) – 20 образцов, мелкие (Мелк) – 34 образца и поверхностные (Повер) – 6 образцов (Чароит, Г 3-43-2, Ред Скарлет, Гулливер, Тулеевский, Фаворит). По форме клубня образцы разделились на округло-овальные (Ок-ов) – 27 сортов (включая один генотип с округло-плоскими (Ок-плоск) клубнями), овальные (Овал) – 8 сортов, удлинённо-овальные (Уд-ов) – 20 образцов (включая 1 генотип с удлинённо-плоскими (Уд-плоск) и 1 генотип с улинёнными (Удл) клубнями) и округлые (Округ) – 5 образцов (Горняк, Златка, Ирбитский,

Колобок и Танго). Ирбитский и Танго краснолубневые и желтомясые. Окраска глазков клубня бывает жёлтой (Ж) – 26 генотипов, светло-жёлтой (С.ж.) – 1 генотип, красной (Крас) – 8 генотипов, тёмно-красной (Т.крас) – 4 генотипа, ярко-красной (Я.крас) – 1 генотип, розовой (Роз) – 6 генотипов, фиолетовой (Фиол) – 3 генотипа, белой (Б) – 11 генотипов. По окраске ростков растения делятся на белые – 35 генотипов, фиолетовый – 3 генотипа, розовые – 22 генотипа, в том числе 2 ярко-розовых (Я роз), 1 светло-розовый (С роз) и 1 бело-розовый (Б роз).

А.11 Учет болезней и дефектов клубней в послеуборочных пробах

Таблица А.11 – Результаты клубневой оценки сортообразцов картофеля в результате хранения в течение 6 недель после закладки

Сортообразец	Фитофтороз, %	Сухая фузариозная гниль, %	Фузариозно- бактериальная гниль, %	Водянистая гниль, %	Больных клубней, %	Ростовых трещин, %	Ризоктониоз, балл	Парша обыкновенная, балл	Парша серебристая, балл
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Метеор	7,2	0	2,1	2,1	11,4	0	7	9	7
Самба (3-23-2)	2,9	0	9,1	0	13,9	10	5	7	5
Чароит	11,7	1,9	0,7	5,5	17,9	0	7	9	7
Антонина	29,2	0	5,8	16,1	51,1	4	5	9	7
Арлекин	17,9	0	67,9	0	87,1	0	7	9	9
Бабушка	1,1	1,3	12,9	10,7	25,8	10	5	7	7
Г. 3-43-6	7,3	1,1	0,9	2,7	11,8	0	5	9	7
Г.3-43-2	0,7	0,9	0,7	1,4	3,5	10	7	9	7
Г.25/861	3,75	0,7	7,5	1,2	12,45	100 урод.	5	9	5
Жуковский ранний	6,4	0	9,3	1,4	18,5	0	5	7	7
Импала	4,5	1,4	4,5	0	9	50	5	7	5
Крепыш	2,5	0	1,6	5,7	9,8	15	7	9	7
Ломоносовский	3,1	0	14,8	6,25	24,15	0	5	9	7
Любава (Мос)	0,7	0	0	4	4,7	0	7	9	7
Любава (Кем)	1	0	0,9	2,7	5,4	0	5	9	7
Люкс	13,9	1,8	11,9	0,7	26,5	0	5	7	7
Матушка	0	0	0	1,7	5,1	0	7	9	9
Ред скарлет	1,8	3,4	3,7	0	5,5	30	5	7	7
Регги	5,2	0	4,3	3,4	16,3	0	5	9	7

Продолжение таблицы А.11

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Саровский	1,6	3,4	0	5	6,6	0	5	9	9
Старт	6,5	0	9,3	4,7	20,5	3	7	7	7
Удача	0	0	0,6	0,6	2,9	0	7	5	9
Юна	4,7	1,7	0	0	6,6	0	7	7	7
Браво	0	1,9	16,7	0	16,7	0	5	7	7
Василек	4,7	0	0	0	6,4	0	7	7	7
Вираз	0,9	1,7	6,2	3,5	11,5	0	5	9	9
Г.21.8561	10,6	0,9	17,7	0	29,2	7	3	7	7
Гала	2,7	0,9	0	1,4	6,8	0	5	5	7
Горняк	14,5	2,7	0	10,9	25,4	0	7	7	7
Гулливер	4,5	0	20,5	0	25	0	5	5	9
Ильинский	43,9	0	14,3	0	59,2	0	7	7	7
Кемеровчанин	25	1	6,8	9,1	44,3	0	5	7	7
Кортни	5,1	3,4	6,1	6,1	20,3	0	5	7	7
Кузнечанка	0	3	0	0	1,7	0	5	5	5
Невский	0	1,7	0,9	5,4	6,3	0	7	7	7
Лина	2,8	0	1,4	0,7	5,6	0	5	9	7
Памяти Рогачева	4,1	0,7	16,4	6,8	28,7	0	7	7	7
Русский сувенир	16,4	1,4	4,8	25	47,8	0	5	5	7
С-112-03	7,2	1,6	11,2	0,4	20,4	0	5	5	7
Сафо	3,1	1,6	1	2,1	7,2	0	7	7	9
Сударыня	2,9	1	0	10,8	14,4	7	5	9	7
Танай	11,8	0,7	1,8	4,7	19,5	0	7	9	7
Г.06-08-2015	21,5	1,2	7,4	12,4	41,3	0	5	9	9
Великан	2,8	0	1,1	3,3	7,2	0	7	9	9
Вымпел	9,1	0	26	5,2	40,3	0	7	9	9
Голубизна	9,3	0	5,8	3,5	19,8	0	5	7	9
Гусар	12,8	1,2	7,4	2	22,2	0	7	9	9
Жигулевский	0	0	0	10,3	10,3	0	7	9	9

Окончание таблицы А.11

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Златка	45,8	0	2	19,7	67,5	0	7	9	7
Ирбитский	24	0	11,5	8,3	43,8	0	7	7	7
Колобок	43,7	0	28,2	4,2	76,1	0	5	7	7
Накра	47,9	0	17,8	0	66,4	0	7	7	9
Никулинский	5,2	0,7	1	0	10,4	0	7	7	7
Солнечный	21,4	4,2	7,1	14,2	49,8	0	7	9	7
Танго	5,6	7,1	4,2	0	9,8	0	9	9	7
Тулеевский	6,2	0	0,8	5,4	13,2	0	7	9	7
Фаворит	14,3	0,8	21,4	6,25	42,85	0	7	9	7
Фиолетовый	2,8	0,9	16,9	18,3	42,2	0	9	7	5
Фрителла	10,6	4,2	6,7	3,8	23	0	5	9	7
Югана	28,6	1,9	57,1	1,3	87,0	0	7	9	7

В результате клубневого анализа выявили, что в условиях 2017 года из 60 исследуемых образцов гнилями хранения (фитофтороз, сухая фузариозная, фузариозно-бактериальная и водянистая) поразились слабо клубни 20 образцов от 1,7% у Кузнечанки до 10,4% у Никулинского. У 13 образцов поражение до 20% (от 11,4% у Метеора до 19,8% у Голубизны). У 12 образцов поражение от 20 до 29,2 %. У 15 образцов клубни поразились сильно от 40,3% у Вымпела до 87% у Арлекина и Юганы. Клубни, изучаемых образцов, не поразились серебристой паршой у 9 образцов, паршой обыкновенной у 22 образцов. Ризоктониозом не поразились клубни только 2 сортов – Танго и Фиолетовый. Ростовые трещины выявлены у 8 образцов из 60 от 3% у Старта до 50%.

А.12 Анализ биохимического состава клубней ранних сортов

У ранних сортов высокий процент крахмала отмечен у 8 из 22. От 16,0 (Чароит, Любава (Кем.), Старт) до 19,6 % (Антонина, Саровский). У 13 из 22 образцов выявлены высокие показатели аскорбиновой кислоты от 7,5 у Ломоносовского до 11,0 мг/100 г веса у сорта Чароит. Высокое содержание сухого вещества у 3 ранних сортов: Антонина – 27,5 %, Регги – 27,8 %, Саровский – 30,0 %.

Таблица А.12 – Биохимический состав клубней ранних сортов

Сортообразец	Сухое вещ-во, %	Крахмал, %	Аскор. кисл., мг/100 г
Метеор	20	11,6	6,5
Самба (3-23-2)	22,2	14,1	8,0
Чароит	24,2	16,0	11,0
Гулливёр	21,1	13,6	8,0
Антонина	27,5	19,6	8,0
Г. 3-43-6	21,2	12,5	8,0
Г.3-43-2	20,2	11,6	7,0
Г.25/861	—	—	—
Жуковский ранний	17,9	10,7	7,0
Импала	17,6	10,7	7,0
Крепыш	21,9	14,2	8,0
Ломоносовский	25,3	16,9	7,5
Любава (Мос.)	22,3	13,7	6,0
Любава (Кем.)	26,0	16,0	9,2
Люкс	23,7	13,4	7,0
Матушка	26,4	16,1	9,0
Ред скарлет	16,4	10,0	8,0
Регги	27,2	16,4	7,2
Саровский	30,0	19,6	6,7
Старт	24,2	16,0	8,5
Удача	24,6	14,2	9,1
Юна	18,8	12,5	9,0

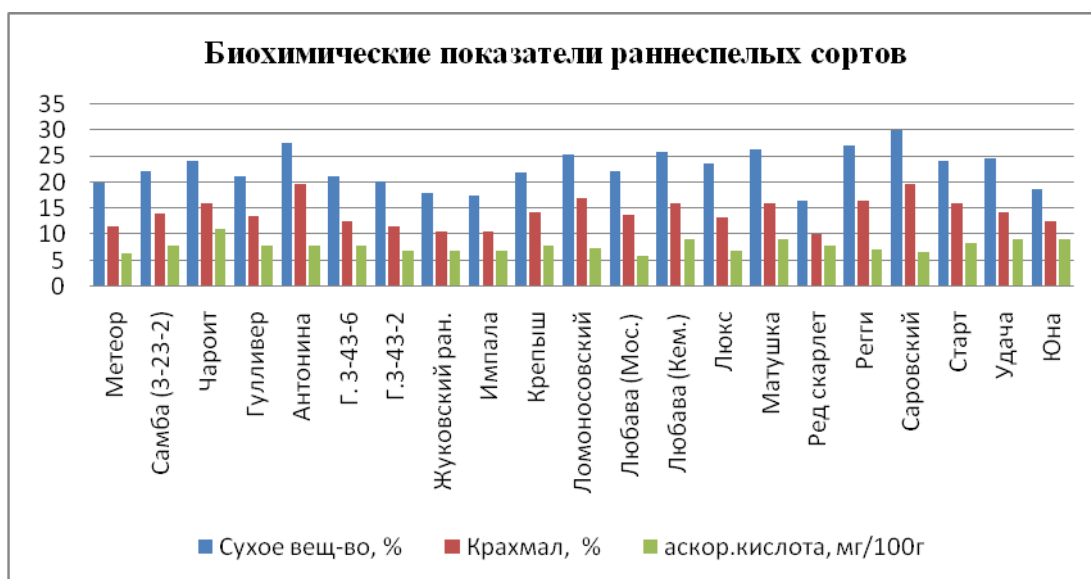


Рисунок А.4 – Распределение характеристик биохимического состава клубней ранних сортов

А.13 Анализ биохимического состава клубней среднеранних сортов

Таблица 13 – Биохимический состав клубней среднеранних сортов

Сортообразец	Сухое вещ-во, %	Крахмал, %	Аскорб. кислота, мг/100 г
Бабушка	21,2	13,9	8,0
Браво	21,0	13,5	12,0
Василек	27,7	17,8	8,0
Вираз	19,9	12,5	7,2
Г. 21.8516	23,4	13,4	7,2
Гала	20,8	11,1	7,5
Горняк	25,8	16,9	6,6
Ильинский	21,2	12,5	8,0
Кемеровчанин	27,8	18,7	7,0
Кортни	24,9	18,7	9,0
Кузнечанка	20,8	14,2	8,0
Невский ст.	24,6	16,9	10,0
Лина	26,0	16,9	8,0
Пам.Рогачева	26,0	16,9	8,0
Русский сув.	22,3	13,8	10,0
С-112-03	28,8	18,7	7,3
Сафо	20,6	11,6	6,6
Сударыня	16,9	11,6	10,0
Танай	25,7	14,7	9,0
Г. 06-08-2015	24,2	16,0	8,7

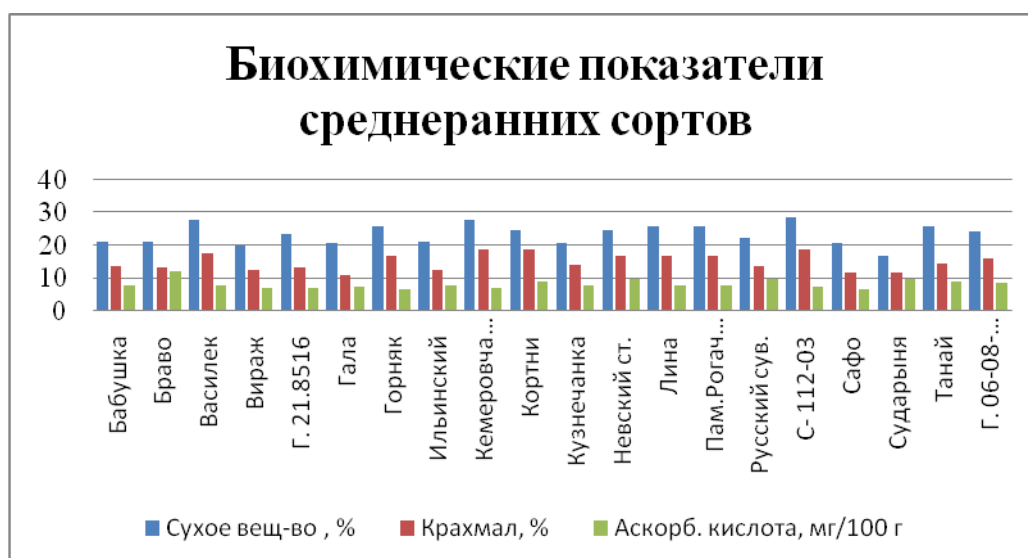


Рисунок А.5 – Распределение характеристик биохимического состава клубней среднеранних сортов

У среднеранних сортов высокий процент крахмала из 20 образцов выявлен у 8 от 16,0 % (Г.06-08-2015) до 18,7 (Кемеровчанин, Кортни, С-112-03). У 14 из 20 образцов высокие показатели аскорбиновой кислоты (от 7,5 у сорта Гала до 12,0 мг/100 г веса у сорта Браво). Высокое содержание сухого вещества у 3 среднеранних сортов: Василек – 27,7 %, Кемеровчанин – 27,8 %, С-112-03 – 28,8 %.

А.14 Анализ биохимического состава клубней среднеспелых сортов

У среднеспелых сортов высокий процент крахмала у 10 из 18 образцов от 16,0 % (Арлекин, Жигулевский) до 21,4 % (Танго). У 13 образцов высокие показатели аскорбиновой кислоты от 7,5 мг/100 г веса у Гусара до 11,0 у сорта Югана. Высокое содержание сухого вещества у 5 из группы среднеспелых и среднепоздних сортов: Голубизна – 27,5 %, Накра – 27,0 %, Солнечный – 27,1%, Танго – 29,6 %, Фрителла – 26,5%.

Таблица А.14 – Биохимический состав клубней среднеспелых сортов

Сортообразец	Сухое вещество, %	Крахмал, %	Аскорб. кислота, мг/100 г
Арлекин	24,6	16,0	7
Великан	21,3	13,5	10
Вымпел	25,7	17,8	10
Гусар	23,4	15,1	7,5
Голубизна	27,5	19,6	10
Жигулевский	24,3	15,8	8
Златка	22,9	14,0	9
Ирбитский	21,6	13,0	8,5
Колобок	20,6	12,5	6,8
Накра	27,0	16,3	7
Никулинский	25,5	16,9	9
Солнечный	27,1	16,9	8
Танго	29,6	21,4	7,1
Тулеевский	22,9	11,0	6,9
Фаворит	19,4	11,6	9
Фрителла	26,5	19,6	10
Фиолетовый	21,8	13,3	10
Югана	25,9	16,9	11

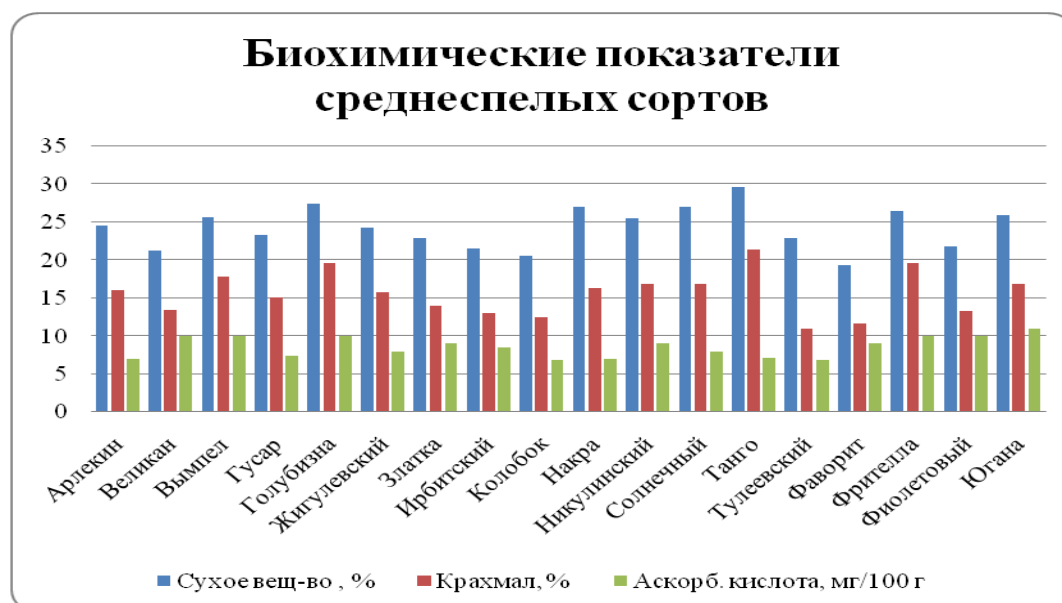


Рисунок А.6 – Распределение характеристик биохимического состава клубней среднеспелых сортов

А.15 Оценка столовых качеств сортообразцов картофеля

Таблица А.15 – Результаты оценки столовых качеств и кулинарного типа сортообразцов

Сортообразец	Целость кожуры	Плотность мякоти	Рассыпчатость- мучнистость мякоти	Водянистость	Потемнение мякоти после приготовления	Вкус
1	2	3	4	5	6	7
Метеор	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	7
Самба (3-23-2)	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	7
Чароит	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Антонина	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Арлекин	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Бабушка	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Г. 3-43-6	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	7
Г.3-43-2	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	7
Г. 25/861	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Жуковский ран.	А	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Импала	А	Плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Крепыш	А	Плотная	Не мучнистая	Водянистая	Не темнеет	7
Ломоносовский	А-В	Плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Любава (Мос)	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Любава (Кем)	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Матушка	А-В	Плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Ред скарлет	А-В	Плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Регги	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Саровский	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Старт	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Удача	А	Плотная	Не мучнистая	Водянистая	Не темнеет	8
Юна	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Браво	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Водянистая	Не темнеет	8
Василек	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Водянистая	Не темнеет	7
Вираз	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	7

Продолжение таблицы А.15

1	2	3	4	5	6	7
Г.21.8516	А-Б	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	7
Гала	А	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Горняк	А	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Гулливёр	А-В	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	7
Ильинский	А-В	Плотная	Слабо мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	7
Кемеровчанин	В-С	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Слегка водянистая	Умеренное потемнение	8
Кортни	В-С	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Кузнечанка	В-С	Умеренно плотная	Мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	7
Ст. Невский	А-В	Плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	7
Лина	В-С	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Пам.Рогачева	В-С	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Русский сувенир	В-С	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	7
С-112-03	В-С	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Сафо	В-С	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	8
Сударыня	В-С	Умеренно плотная	Мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	8
Танай	В	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	8
Г. 06-08-2015	В-С	Умеренно плотная	Мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	7
Великан	А-В	Умеренно плотная	Не мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	8
Вымпел	В-С	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	8
Голубизна	С	Умеренно плотная	Мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	8
Гусар	В-С	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	8
Жигулевский	В-С	Умеренно плотная	Слабо- мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	8
Златка	В-С	Умеренно плотная	Мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	8
Ирбитский	В	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	8
Колобок	В-С	Умеренно плотная	Мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	8
Накра	В-С	Умеренно плотная	Мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	9
Никулинский	В-С	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	8
Солнечный	В-С	Умеренно плотная	Слабая мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	8
Танго	В-С	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	9

Окончание таблицы А.15

1	2	3	4	5	6	7
Тулеевский	В-С	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	9
Фаворит	В	Плотная	Слегка мучнистая	Слегка водянистая	Не темнеет	9
Фиолетовый	В	Умеренно плотная	Слабо мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	7
Фрителла	В	Умеренно плотная	Слегка мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	8
Югана	В	Умеренно плотная	Слегка мучнистая	Не водянистая	Не темнеет	8
Примечание – Сорта ранних групп спелости относятся к кулинарному типу А и АВ со вкусовой оценкой 7-8 баллов. Среднеранние сорта относятся к кулинарному типу АВ и ВС со вкусовой оценкой 7-8 баллов. Среднеспелые сорта относятся к кулинарному типу АВ и ВС со вкусовой оценкой 8-9 баллов.						

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Библиографический список публикаций, полученных в результате выполнения научно-исследовательской работы

1 Хлесткин В.К., Эрст Т.В. Практическое руководство по оценке морфологии гранул картофельного крахмала методом микроскопирования // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. Т. 21. С. 728-734.

2 Дорошков А.В., Афонников Д.А. Опушение листа у картофеля *Solanum tuberosum*: морфология, функциональная роль и методы исследования // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018. Т. 22. В печати.

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Стандартная операционная процедура «Хранение и браковка пробирочных растений»

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН – СибНИИРС

Пересмотр через: 1 год

СибНИИРС – филиал ИЦиГ СОРАН	
СОП №1 от 17.10.2017	Стандартная процедура «Хранение и браковка пробирочных растений»
Цель СОП:	Поддержание жизнеспособной коллекции оздоровленных растений картофеля <i>in vitro</i> .
Разработчик	Мызгина Г.Х., Колошина К.А.
Рабочее место	Группа биотехнологии картофеля
Утверждено	ФАНО России.
Разработано на основании	Методических рекомендаций по поддержанию коллекционного материала в условиях <i>in vitro</i> , ВНИИКС, 1989 г.

Таблица В.1 – СОП «Хранение и браковка пробирочных растений»

№	Описание операции	Время выполнения	Используемые материалы и приборы
1	Проведение ИФА для определения скрытой зараженности вирусами X, Y, M, S, ВСКЛ, по ГОСТ Р 53136 и бактериям (возбудителям черной ножки и кольцевой гнили).	100 образцов в течение 48 часов. Через каждые 20-40 в зависимости от сорта дней в целях восстановления образцов коллекции и микроклональном размножении как исходного материала для размножения сорта.	Фотометр вертикального сканирования, термостат суховоздушный для планшетов поддерживающий температуру (37 °С), весы аналитические с точностью до (+-0,0005 г), ПИПЕТКА ДОЗАТОР (100-1000мкл.), пипетки многоканальные на объем 0,05-0,25 см ³ , шейкер для планшетов, посуда мерная вместимостью 1, 0,5; 0,35; 0,25; 0,1; 0,05; 0,01 дм ³ . Микропробирки конические с крышкой 1,5 см ³ . Центрифуга настольная для пробирок на 1,5 см ³ и ускорением 10000g. Вода дистиллированная ГОСТ 6709. Бумага фильтровальная ГОСТ12062. Перчатки резиновые. Диагностические ИФА наборы для определения вирусных (X,

	-анализ проводят в соответствии с инструкциями, прилагаемыми к диагностическим наборам ИФА. -оформление протокола испытания.		Y, S, M, ВСЛК) и бактериальных возбудителей черной ножки и кольцевой гнили, с порогом чувствительности для вирусов $10\text{--}50$ нг/см³, возбудителей бактериоза $10^4\text{--}10^5$ клеток/см³. Воронки стеклянные диаметром 10 см. по ГОСТ25336. Холодильник поддерживающий температуру +2 до 8 и не выше (–16) для хранения материала. Таймер с точностью 1 измерения 1 мин.
2.	Браковка перед черенкованием, по результатам ИФА, зараженные удаляют из коллекции (в емкость для мусора)	1 час	Результаты ИФА, емкость для больных растений.
3	- Черенкование (микрклональное размножение) пробирочных растений одного сорта в четырех повторностях (СОП 2)	5 дней	То же что и по СОП 2.
4	Вегетация пробирочных растений происходит на светоустановке в течение 30 дней при температуре 18–22 °С и влажности 65%.	30 дней	Световая комната с регулируемыми параметрами температуры и влажности, штативы с пробирочными растениями.

5	Браковка растений, отстающих в росте и развитии, бледных, с отсутствием корневой системы и заросших. Оставшиеся растения-мощные, имеющие темно-зеленую окраску с 8-10 междоузлиями, имеющие хорошо развитую корневую систему, незаросшие оставляют в коллекции для следующего черенкования.	8 часов	Штативы с пробирочным материалом, емкости для утилизации бракованных растений.
7	В течение года черенкование повторяется 5-6 раз.		

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Стандартная операционная процедура «Микроклональное размножение растений (черенкование)»

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН – СибНИИРС

Пересмотр через: 1 год

СибНИИРС-филиал ИЦиГ СОРАН	
СОП №2 от 17.10.2017	Стандартная операционная процедура «Микроклональное размножение растений (черенкование)»
Цель СОП	Размножить исходные растения сорта до необходимого количества путем деления пробирочного растения на черенки (стебель с листом)
Разработчик	Мызгина Г.Х., Колошина К.А.
Рабочее место	Группа биотехнологии картофеля
Утверждено	ФАНО России.
Разработано на основании:	Методические рекомендации по микроклональному размножению растений картофеля в культуре <i>in vitro</i> . М., 1980, ВНИИКХ

Таблица Г.1 – СОП «Микроклональное размножение растений (черенкование)»

№	Описание операции	Время выполнения	Используемые материалы и приборы
1	Подготовка бокса: протирают внутреннюю поверхность ламинар-бокса 70% спиртом	10 мин	100 мл. спирта, протирачные салфетки
2	Приготовление питательной среды Мурасиге-Скуга для культивирования черенков: на 1 л. маточного раствора	1 час	Химреактивы в соответствии с прописями по Мурасиге-Скуга, колбы или химические стаканы на 2, 1 л, банки с притертыми пробками для хранения маточных растворов на 1 л. 100
3	Приготовление макросолей: в емкость 1 л, добавляем отвешенные на технических весах навески в мг. NH_4NO_3 -1650, KNO_3 -1900, $(\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O})$ -440 (пред внесением нагревается до кипения),		

4	($\text{MgSO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$-370 вносят последним без нагревания для предотвращения выпадения осадка), KH_2PO_4-170, ----- Приготовление микросолей: $\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$-22,3, $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$-0,025, $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$-8,6, $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$-0,025, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$-0,25, KI-0,83, ($\text{Fe}_2\text{SO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$-557 – следует нагреть до кипения).	3 часа	мл, баночки на 20-50 мл, мерные пипетки на 10 и 1 мл, весы технические, торзионные, электроплитка, холодильник для хранения маточных растворов, стерильные растворы щелочи, морозильная камера для хранения витаминов и наборов ИФА
5	Добавление витаминов, гормонов. ростовых веществ: необходимые компонента, витамины. гормоны, ростовые вещества: Трилон В-33,7-нагревать до кипения), тиамин-0,1, пиридоксин-0,5, никотиновая кислота-0,5, мезо-инозит-100, глицерин-2,0, ИУК-2,0, кинетин-2,0, сахароза-30,0. Полученные растворы сливают в банки с притертой крышками, этикируют и ставят в холодильник. Хелат железа хранить в темной склянке, берется 5 мл маточного р-ра. Концентрированные р-ры витаминов, каждого в отдельности хранить во флакончиках. Для приготовления растворов их берут пипеткой 1/10 часть р-ра и растворяем в 10 мл воды, в 1 мл этого раствора содержится порция витамина для 1 л среды.	5 часов	
6	Смешивание компонентов среды. Берут колбу 1 л помещают в нее 30 г сахарозы, доливают до половины емкости дистиллированной водой, нагревают. После растворения	30 мин	

	добавляют 50 мл маточного раствора макросолей, 1 мл микросолей, по 1 мл витаминов и доводят объем до 1 л дистиллированной водой.		
7	Контроль за pH среды. Доводят pH среды до 5,5-5,6 раствором стерильной щелочи. В пробирку наливают щелочи из расчета на 1,0 ед. pH 0,3 мл и добавляют к среде.	30 мин	pH метр «Анион 4100», набор стерильных щелочей, пробирки.
8	Специфика добавления в среду компонентов. Растворы гормонов, ростовых веществ добавляют: ауксины (100 мг. растворяют в 0,5-2 мл спирта, подогревают на спиртовке, и добавляют дистиллированную воду до 100 мл, берут 2 мл, остужают, стерилизуют через фильтр «Милипор» 0,05 и выливают в среду, кинетин-раствором 0,5 мг в 1 мл HCl добавляют дистиллированную воду до 100 мл, стерилизуем через фильтр «Милипор» и добавляют к среде 0,5 мл.	2,5 часа	фильтры Зейца, Милипор с диаметром пор 0,4 мкм, HCL, 96% спирт, ауксин, кинетин,
9	Стерилизация среды. Берут колбу емкостью 0,5 л, делают навеску 50 г агар-агара замачивают в воде, ставят на электроплитку, нагревают до растворения слегка помешивая, сливают с приготовленной средой доводят до 1 л дистиллированной водой. Колбу со средой закрываем ватной пробкой (фольгой) и стерилизуют в автоклаве 40 мин при давлении 1 атм.	2 часа	Автоклав, весы аналитические (Adveturer AX 124), дистиллированная вода, агар-агар, спиртовка, колба на 1 л, фольга

	Стерилизация разлитой среды в пробирках: берут штатив с пробирками наливают в каждую 1/3 пробирки среды, закрывают ватными пробками, завязывают в бумагу штатив с пробирками и стерилизуют в автоклаве 40 мин при 1 атм. Проавтоклавированные штативы вытаскивают, охлаждают и переносят в ламинар бокс.	1,5 часа	Штатив, пробирки, пит. среда, пробки ватные, бумага упаковочная, автоклав.
10	Стерилизация посуды и питательной среды: посуду моют в растворе бихромата калия в серной кислоте, затем 8 раз проточной водой; чистую посуду и матрасики помещают в сушильный шкаф на 1 ч при температуре 100–130 °С. Для хранения емкости закрывают ватными пробками или фольгой, или заворачивают в бумагу. Металлические предметы, чашки Петри, завернутые в бумагу, помещают в сушильный шкаф на 2 ч при температуре 160 °С. Штативы с пробирками, заполненные питательной средой и закрытые пробками, заворачивают в бумагу, автоклавируют в течение 40 мин при 1 атм., дистиллированную воду в стеклянной емкости автоклавируют в таком же режиме. Простерилизованные предметы переносят в ламинар-бокс.	6 часов	колбы, баночки, Чашки Петри, матрасики, сушильный шкаф, двуххромовокислый калий, серная кислота для приготовления препарата хромпик, стекла, скальпели. Иглы, ватные пробки, фольга штативы с пробирками заполненные пит. средой, упаковочная бумага, колба с дистиллированной водой, автоклав.
11	Черенкование (микрклональное размножение:	Расче-ренковать 1	пробирки с асептическими рас тениями, пинцет, скальпель, резиновые перчатки, спиртовка,

-переносят из растильни, где хранится коллекция оздоровленных растений <i>in vitro</i>, в ламинар-бокс штативы (пробирочные растения) с асептическими растениями нужного для размножения сорта; -протирают руки в перчатках спиртом; -берут пинцет, обжигают его на спиртовке, предварительно окунув его в спирт; -берут пробирку, снимают пробку; -вынимают растение пинцетом и кладут на бумажный матрасик; -кладут пинцет, берут в одну руку пробирку; -края пробирки обжигают над пламенем, второй рукой обжигают пробку, закрывают пробирку и отсыавляют в сторону; -берут пинцет в одну руку и, придерживая растение второй рукой, стерильным скальпелем разрезают его на части, содержащие отрезок стебля с листком и пазушной почкой; -берут в одну руку пробирку с проавтоклавированной средой, второй рукой берут при помощи простерилизованного в спирте пинцета черенок и высаживают его на питательную среду так, чтобы нижняя часть черенка находилась на 0,8–1,0 см в среде -пробирки ставят в штатив и при заполнении последнего переносят на	расте- ние 5 мин, штатив (30 раст.) 2,5 часа	96% спирт, пробирки со стерилизованной средой, ватные пробки, бумажные матрасики, штатив, светоустановка
---	---	---

	световую установку с коллекционным материалом.		
12	Хранение расчерченного материала	20 дней, 6 раз	Световая установка

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Стандартная операционная процедура «Введение новых образцов в коллекцию оздоровленных сортов картофеля *in vitro*»

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН – СибНИИРС

Пересмотр через: 1 год

СибНИИРС – филиал ИЦиГ СОРАН	
СОП №3 от 17.10.2017	Стандартная процедура «Введение новых образцов в коллекцию оздоровленных сортов картофеля <i>in vitro</i> »
Цель СОП:	Расширение коллекции оздоровленного материала картофеля для ведения семеноводства на оздоровленной основе по новым сортам.
Разработчик	Мызгина Г.Х., Колошина К.А.
Рабочее место	Группа биотехнологии картофеля
Утверждено	ФАНО России.
Разработано на основании	Методических рекомендаций по оздоровлению сортов картофеля, ВНИИКС, 1980 г.

Таблица Д.1 – СОП «Введение новых образцов в коллекцию оздоровленных сортов картофеля *in vitro*»

№	Описание операции	Время выполнения	Используемые материалы и приборы.
1	Отбор базовых клонов: визуально здоровые в период цветения отбираются базовые растения, параллельно их листовые пробы проверяются ИФА (СОП 1). Отобранные здоровые клоны помещают в пакет и закладывают на хранение, после окончания периода покоя проводят термотерапию.	16 часов по оценке и 3 месяца хранения в хранилище.	Вегетирующие растения, набор для ИФА-анализа, бумажные пакеты, хранилище.
2	Термотерапия: клубни тщательно моют в проточной воде, подсушивают и помещают в	1 час/40 дней	Вода, термостат.

	термостат на 40 дней с температурой 37 °С		
3	Проращивание: после термотерапии клубни кладут в ванночки на стеллажи в темном месте при температуре 20–22 °С и влажности воздуха 75%. для получения этилированных ростков длиной 2–3 см	30 дней	Кюветы-ванночки, стеллаж, темная комната.
4	Подготовка бокса, приборов и оборудования: микробиологический бокс кварцуется в течение 2 часов, ламинар, микроскоп, штативы протираются 96% спиртом, пробирки со средой готовятся в соответствии с (СОП1/1-10), пинцеты, скальпели, иглы стерилизуют перед каждым вычленением, погружая в спирт и обжигая на спиртовке.	8 часов	Ламинар-бокс, кварцевая лампа, микроскоп или бинокулярная лупа с увеличением 40-50 крат, 96% спирт, пробирки с питательной средой, штативы, пинцеты, скальпели, иглы, спиртовка.
5	Подготовка ростков к вычленению: от клубней отделяют ростки помещают их в р-р 30% гипохлорида и стерилизуют их в течение 3–5 мин, затем промывают 3 раза в стерильной воде, помещают в чашки Перти и добавляют несколько капель автоклавированной воды и ставят ее в ламинар.		Клубни с этилированными ростками, раствор гипохлорида кальция, дистиллированная вода.

6	Вычленение: помещают стерильным пинцетом росток под бинокляр, устанавливают увеличение в 40–50 крат., берут препаровальную иглу, удаляют с верхушки ростка покровные листочки, открывают боковые и верхушечную меристемы, раздвигают примордии и острием иглы (смотрим с какой меристемы удобней брать, боковой или верхушечной) выщипывают кусочек меристемы, примерно, размером 100–200 мкм и переносят ее на поверхность питательной среды, над пламенем горелки закрывают пробкой и ставят в штатив.	10 меристем в час.	Этилированный росток, пинцеты, скальпели, препаровальная игла, пробирки с питательной средой, штатив.
7	Регенерация меристемы: заполненный штатив ставят в световую комнату с освещенностью 10 тыс. люкс, в течение 16 часов и температурой 22 °С. Повторяют процедуру 8–10 раз по одному образцу	30 дней	Световая комната с регулируемыми параметрами температуры и влажности, штативы с меристемами
8	Пересадка на свежую среду для регенерации полноценных (с 5–7 листочками растений) ростков: повторяют процедуру (СОП 3/4), далее берут пробирку с ростком, над пламенем горелки открывают пробирку стерильным пинцетом вытаскивают проросток, кладут на матрасик, отделяют верхнюю часть. Затем берут пробирку со свежей средой, снимают над пламенем	8 часов	Пробирки с ростками и свежей питательной средой, пинцет, скальпель, спиртовка, штативы, бумажные матрасики, световая комната, набор для ИФА-анализа.

	горелки пробку, второй рукой берут стерильным пинцетом верхнюю часть проростка и переносят его в пробирку со свежей средой, над пламенем горелки закрывают пробкой. Ставят в штатив и по мере заполнения штатива уносят на светоустановку. Остывшую часть проростка помещают в стерильную посуду с крышкой для ИФА.		
9	Растения-регенеранты свободные от вирусной инфекции регистрируются и после отрастания служат в качестве исходного материала для ускоренного размножения и ведения оригинального семеноводства сорта.	20 дней	Регистрационный журнал.

ПРИЛОЖЕНИЕ Е

Стандартная операционная процедура «Хранение клубневого материала, полученного из пробирочных растений с аэропонной установки»

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН – СибНИИРС

Пересмотр через: 1 год

СибНИИРС-филиал ИЦиГ СО РАН	
СОП № 4 от 17.10.2017	Стандартная операционная процедура «Хранение клубневого материала, полученного из пробирочных растений с аэропонной установки»
Цель СОП:	Получение качественного клубневого материала
Разработчик:	Мызгина Г.Х., Колошина К.А.
Рабочее место:	Лаборатория биотехнологии картофеля
Утверждено:	ФАНО России
Разработано на основании:	Рекомендации ФГБНУ ВНИИСБ

Таблица Е.1 – СОП «Хранение клубневого материала, полученного из пробирочных растений с аэропонной установки»

№	Описание операции	Время выполнения	Используемые материалы и прибор
1.	Сбор клубней, промывка проточной водой	2 часа/день	Аэропонная установка, перчатки, временный контейнер на 5 дней.
2.	Обработка фунгицидом Максим 1 мг/л	2 часа через 5 дней сбора	Максим, контейнеры.
3.	Просушка при комнатной температуре в течение суток	2 часа через 5 дней сбора	Фильтровальная бумага
4.	Хранение, помещаем клубни в контейнер и храним в холодильнике при температуре +4 °С, влажности 75%.	3 месяца, в зависимости от срока сбора.	Контейнеры, холодильная витрина.
5.	Переборка, через 2 недели, повторная сушка	4 часа	Контейнеры, холодильная витрина.

6.	Удаление клубней потерявшие тургор		Контейнеры, холодильная витрина.
7.	Проверка сохранности клубней визуально через каждый месяц до посадки.	12 часов	Контейнеры, холодильная витрина.

ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

Стандартная операционная процедура «Выращивание мини-клубней на аэропонной установке»

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН – СибНИИРС

Пересмотр через: 1 год

СибНИИРС – филиал ИЦиГ СОРАН	
СОП №5 от 17.10.2017	Стандартная процедура «Выращивание мини-клубней на аэропонной установке»
Цель СОП:	Вырастить исходный материал (мини-клубни) для закладки питомника первого полевого поколения при производстве оригинальных семян картофеля
Разработчик	Мызгина Г.Х., Колошина К.А.
Рабочее место	Группа биотехнологии картофеля
Утверждено	ФАНО России.
	Инструкция по выращиванию мини-клубней на аэропонной установке, Мартиросян Ю.Ц. ВНИИСХБ, 2010 г.

Таблица Ж.1– СОП «Выращивание мини-клубней на аэропонной установке»

№	Описание операции	Время выполнения	Используемые материалы и приборы
1.	Черенкование пробирочных растений для установки по подращиванию расчеренкованных растений перед посадкой в аэропонную установку в количестве 240 шт.	В соответствии с СОП-2	В соответствии с СОП-2
2	Приготовление маточных растворов Мурасиге Скуга для 4 литров питательной среды для аэропонной установки. СОП-2 пункты 2,3,4,5,6.	10 часов	В соответствии с СОП-2 (пункты 3,4,5,6.)

	Подготовка помещения где находятся аэропонные установки проводится раствором белизны, промываются стены, окна, пол. двери	3 часа	«Белизна», губка, ведро.
	Подготовка установки к работе проводится за сутки перед посадкой, промываются системы подачи воды, емкости, лотки раствором 1% растворов соляной кислоты или хлорки	6 часов	Концентрированная соляная кислота, мерная колба на 200 мл., хлорка, ведро для разведения хлорной извести.
3	Добавление компонента №1 для питательного раствора фазы №1	30 мин 2 ч в год	Компонент №1 поставляемый ВНИИСБ, колба на 100 мл
4	Доведение pH до 5,8 питательного раствора для аэропонной установки и концентрации солей до 2,5 ед.	30 мин 2 ч в год	Портативный pH метр pH ST-20, ортофосфорная кислота, дистиллированная вода
5	Установка режимов для фазы №1 светового 16 часов света, 8 часов темноты, температурного 18–22 °С, подача раствора 3 мин через 6 мин.	10 мин, 30 мин в год	Програмное устройство аэропонной установки
6	Посадка растений 200 шт. в ячейки лотков установки	8 часов	Пробирочные растения, аэропонная установка, уплотнители ячеек
7	Уход за растениями на аэропонной установке: -ежедневное измерение pH и концентрации солей, -подвязка растений на лотках (спустя 7 дней от посадки), – осмотр растений и удаление опавших	20 мин/день, 100 час в год 10 мин/день, 10 часов в год 10 мин/день, 50 часов в год	Портативный pH метр pH ST-20, ортофосфорная кислота, дистиллированная вода, шпагат, ведро для мусора.

8	Смена питательного раствора на фазу №2, добавление в питательную среду компонента №2 через 3-4 недели в зависимости от развития растений	30 мин/день. 2 часа в год	Компонент №2 поставляемый ВНИИСБ, колба на 100 мл
9	Смена питательного раствора на фазу №3, добавление в питательную среду компонента №3 через 1,5-2 месяца с момента посадки в зависимости от развития растений	30 мин/день. 2 часа в год	Компонент №3 поставляемый ВНИИСБ, колба на 100 мл
10	Смена светового режима, через 1,5-2 месяца с момента посадки на 10 часов света 14 часов темноты.	10 мин, 30 мин в год.	Програмное устройство аэропонной установки
11	Сбор клубней, через 1-2 дня	1 час, 60 часов в год	Емкость для сбора (кювета)
12	Обработка клубней перед закладкой на хранение, мини-клубни промываются в проточной воде, ополаскиваются в дистиллированной воде, обрабатываются 25% раствора «Максим», просушивают в течение суток, укладывают в полиэтиленовый контейнер и далее хранение в соответствии с СОП-4	в 2 недели раз. всего 9 раз по 2 часа, итого 18 часов в год.	Препарат «Максим» контейнеры для хранения, проточная вода, дистиллированная вода.,

ПРИЛОЖЕНИЕ И

Стандартная операционная процедура «Проведение ИФА-диагностики на вирусные и бактериальные болезни вегетирующих растений»

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН

Пересмотр через: 1 год

СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН	
СОП №6 от 17.10.2017	Стандартная процедура «Проведение ИФА-диагностики на вирусные и бактериальные болезни вегетирующих растений»
Цель СОП:	Установить зараженность вирусным и и бактериальными болезнями растений картофеля в поле используя листья вегетирующих растений.
Разработчик	Мызгина Г.Х., Колошина К.А.
Рабочее место	Группа биотехнологии картофеля
Утверждено	ФАНО России
Разработано на основании	Инструкция по использованию иммуноферментного диагностического набора для определения вирусов картофеля. Коренево. 2003 г.

Таблица И.1 – СОП «Проведение ИФА-диагностики на вирусные и бактериальные болезни вегетирующих растений»

№	Описание операции	Время выполнения	Используемые материалы и приборы.
1	Подготовка растительного материала вегетирующих растений (листья) - в поле со среднего яруса отбираются с вегетирующих растений листья которые необходимо протестировать ИФА методом в количестве 3-5 листьев, материал складывается в полиэтиленовый пакет с замком и	4 часа /200 образцов	Вегетирующие растения, полиэтиленовые пакеты с замком, 200 шт. карандаш, журнал учета отбора образцов

	регистрируется. Надпись делается в журнале и на пакете. - в лаборатории листья вытаскиваются, помещаются в кювету и под проточной водой тщательно промываются, затем встряхиваются и прополаскиваются в дистиллированной воде и ложат на просушку. - одеваются резиновые перчатки, обрабатываются 70% спиртом, берется ручной пресс (изготовлен на основе плоскогубцев) или вальцовый пресс в одну руку, второй в ложе пресса закладывается образец и несколькими нажатиями выдавливается сок. Последний переливается в полиэтиленовую пробирку с крышкой, подписывается и ставится в штатив. -штатив приносится в лабораторную комнату где проводится анализ, берут пробирку открывают крышку и пипеткой берем 1 мл. картофельного сока и наносим анализируемые объекты в лунки платы	6 часов/200 образцов 8 часов/200 образцов 2 часа/200 образцов	Кювета, дистиллированная вода, фильтровальная бумага, резиновые перчатки, 70% спирт, резиновые перчатки, вальцовый или ручной пресс, полиэтиленовые пробирки с крышкой на 10 мл 200 шт., штатив. Пипетка дозатор на (100-1000 мкл.), платы с подготовленным материалом.
2	Проведение анализа в соответствии с СОП-1/1	в соответствии с СОП-1/1	в соответствии с СОП-1/1

3	Оценка результатов в соответствии с СОП-1/1	в соответствии с СОП-1/1	в соответствии с СОП-1/1
---	---	--------------------------	--------------------------

ПРИЛОЖЕНИЕ К

Стандартная операционная процедура «Проведение ИФА-диагностики на вирусные и бактериальные болезни клубневого материала»

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН – СибНИИРС

Пересмотр через: 1 год

СибНИИРС – филиал ИЦиГ СОРАН	
СОП №7 от 17.10.2017	Стандартная процедура «Проведение ИФА-диагностики на вирусные и бактериальные болезни клубневого материала»
Цель СОП:	Установить зараженность вирусным и и бактериальными болезнями растений картофеля в поле используя клубневой материал
Разработчик	Мызгина Г.Х., Колошина К.А.
Рабочее место	Группа биотехнологии картофеля
Утверждено	ФАНО России
Разработано на основании	Инструкция по использованию иммуноферментного диагностического набора для определения вирусов картофеля. Коренево, 2003 г.

Таблица К.1 – СОП «Проведение ИФА-диагностики на вирусные и бактериальные болезни
клубневого материала»

№	Описание операции	Время выполнения	Используемые материалы и приборы.
1	Подготовка клубневого материала - в теплице, хранилище отбираются образцы (исходный материал 100%) теплицы (200 растений по сорту), первое полевое поколение по (200 растений на участке) которые необходимо протестировать ИФА материал складывается в полиэтиленовый пакет с замком и	4 часа /200 образцов	Клубни, полиэтиленовые пакеты с замком, 200 шт. карандаш, журнал учета отбора образцов

	регистрируется. Надпись делается в журнале и на пакете. - в лаборатории клубни вытаскиваются, помещаются в кювету и под проточной водой тщательно промываются, затем встряхиваются и прополаскиваются в дистиллированной воде и ложат на просушку. - одеваются резиновые перчатки, обрабатываются 70% спиртом, второй пинцетом делаются 1-2 тонких надреза (размером 2X3см.) с кожурой, тщательно перетираются, отстаивают и берут сок. Последний переливается в полиэтиленовую пробирку с крышкой, подписывается и ставится в штатив. - штатив приносится в лабораторную комнату где проводится анализ, берут пробирку открывают крышку и пипеткой берем 1 мл. картофельного сока и наносим анализируемые объекты в лунки платы.	6 часов/200 образцов 8 часов/200 образцов 2 часа/200 образцов	70% спирт, резиновые перчатки, ступка. Пестик, полиэтиленовые пробирки с крышкой на 10 мл. 200 шт. штатив. Пипетка дозатор на (100-1000 мкл.), платы с подготовленным материалом.
2	Проведение анализа в соответствии с СОП-1/1	в соответствии с СОП-1/1	в соответствии с СОП-1/1
3	Оценка результатов в соответствии с СОП-1/1	в соответствии с СОП-1/1	в соответствии с СОП-1/1

ПРИЛОЖЕНИЕ Л

Оборудование, расходные материалы, длительность работ и квалификация сотрудников
при выполнении СОПов В–К

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН – СибНИИРС

Пересмотр через: 1 год

Таблица Л.1 – Длительность работ (часы, дни) при выполнении работ по СОП на год

№ СОП	В лаборатории						При хранении, проращивании, вегетации и регенерации					
	всего		при занятости, %				всего		доля при знятости			
	часы	дни	%		итого		часы	дни	%		итого	
			часы	дни	дни	часы			часы	дни	часы	дни
СОП 1	108	745	33	33	32	224	960	120	5	5	48	6
СОП 2	392	56	100	100	56	488	1280	160	5	5	64	8
СОП 3	126	16	100	100	16	126	1680	210	5	5	84	11
СОП 4	664	71	10	10	66	7	2880	360	4	4	115	15
СОП 5	219	28	100	100	28	219	-	-	-	-	-	-
СОП 6	92	647	33	33	28	196	-	-	-	-	-	-
СОП 7	99	630	33	33	30	210	-	-	-	-	-	-
Итого					256	1792					311	40

Таблица Л.2 – Квалификация сотрудников и заработная плата за год при выполнении работ по СОП

Сотрудники	Степень	Отработано дней	Зарботная плата, тыс. руб.	
			в месяц	Всего
Ведущий научный сотрудник	к.с.-х.н.	60	30	60
Старший научный сотрудник	-	180	25	150
Младший научный сотрудник	-	262	20	240
Итого		502	75	450

Таблица Л.3 – Материалы, затраченные для выполнения СОП по вычленению и по сохранению и поддержанию банка сортов *in vitro*

№	Наименование	Единица измерения	Израсходовано единиц
1.	Пакеты	шт.	155
2.	Этикетки	шт.	155
3.	Маркёры	шт.	5
4.	Перчатки	шт.	50
5.	Спирт	л	20
6.	Среда Мурасиге – Скуга	л	86
	Макроэлементы	л	4,3
	Микроэлементы	л	0,086
	Хелат железа	л	0,43
	CaCL	л	0,86
	Агар	кг	0,5
	Сахароза	кг	1,29
	Ауксины	мл	8,6
	Аденин	г	5
	Кинетин	г	5
	Витамины	уп.	4
7.	Гипохлорид 30%	шт.	23
8.	Стаканчики	шт.	30
9.	Колбы	шт.	15
10.	РНКаза	уп.	1
11.	Интерферон	уп.	1
12.	Моющее средство	уп.	5
13.	Пробирки	шт.	2000
14.	Набор ИФА	шт.	1
15.	Дозатор	шт.	4
16.	Наконечники	шт.	200
17.	Фильтровальная бумага	кг	20
18.	Штативы	шт.	80
19.	Крафт бумага	кг	10
20.	Шпагат	уп.	1
21.	Фунгицид Максим	л	1,5
22.	Контейнеры	шт.	20

Таблица Л.4 – Оборудование, задействованное при выполнении СОП

№	Наименование
1.	Аналитические весы ВК-600
2.	Весы Сарториус
3.	Дистилятор
4.	Стерилизатор
5.	Термостат
6.	Холодильник
7.	Ламинарный бокс
8.	Компьютер
9.	Установка иск. Освещения
10.	Холодильная установка
11.	Аэропонная установка
12.	Кондиционер
13.	Микроскоп, би нокулярная лупа
14.	Ионометр универсальный
15.	Портативный РН метр РН ST-20
16.	Автоклав 2 шт.
17.	Бактерицидная лампа

ПРИЛОЖЕНИЕ М

Стандартная операционная процедура «Подготовка выровненного материала для ЭГИ»

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН – СибНИИРС

Пересмотр через: 1 год

ФИЦ ИЦиГ СО РАН	
СОП №8 от 21.11.2017	Стандартная операционная процедура «Подготовка выровненного материала для ЭГИ»
Цель СОП:	Подготовить на посадку выровненный материал, сортообразцов для ЭГИ
Ответственный:	Сафонова А.Д.
Рабочее место:	Опытный участок поля
Утверждено:	ФАНО России

Таблица М.1 – СОП «Подготовка выровненного материала для ЭГИ»

№	Описание операции	Время выпо- лнения	Используемые материалы и приборы
1.	Получение посылок с других НИИ в пункте выдачи перевозок "Деловые линии"	1 день	Автомобиль, грузчик
2.	Привозка в овощехранилище	1 день	Автомобиль, грузчик
3.	Разгрузка	0,5 дня	Грузчик
4.	Распаковка посылок	2 часа	Ножницы
5.	Подготовка рабочего места и необходимого инвентаря	0,2 дня	Журнал учета, ручка, ящик пластмассовый, стульчики деревянные, бумажные пакеты
6.	Визуальная оценка, описание клубней	4 дня	Ведра, тарные пластмассовые ящики, перчатки, бумажные пакеты 30 на 25 см, журнал учета
7.	Подсчет клубней	4 дня	Журнал учета, ручка, ящик пластмассовый, стулья деревянные

8.	Наборка выровненного материала в бумажные пакеты по трем повторностям каждого сортообразца	4 дня	Ведро, тарные пластмассовые ящики, перчатки, бумажные пакеты 30 на 25 см, журнал учета
----	--	-------	--

Квалификация задействованных сотрудников:

Квалификация сотрудника: Старший научный сотрудник

Младший научный сотрудник

Старший лаборант

Водитель вспомогательный персонал

Грузчик вспомогательный персонал

ПРИЛОЖЕНИЕ Н

Стандартная операционная процедура «Фенологический анализ вегетирующих растений»

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН – СибНИИРС

Пересмотр через: 1 год

ФИЦ ИЦиГ СО РАН	
СОП №9 от 21.11.2017	Стандартная операционная процедура «Фенологический анализ вегетирующих растений»
Цель СОП:	Изучение фенологических фаз роста и развития растения в данных климатических условиях
Разработчик:	Сафонова А.Д.
Рабочее место:	Опытный участок поля
Утверждено:	ФАНО России

Таблица Н.1 – СОП «Фенологический анализ вегетирующих растений»

№	Описание операции	Время выполнения	Используемые материалы и приборы
1.	Наблюдение начальных всходов	3 дня	Журнал учета, ручка
2.	Просчитывание взошедших растений	3 дня	Журнал учета, ручка
3.	Просчитывание бутонизирующих растений	15 дней	Журнал учета, ручка
4.	Учет цветения (начало и полное цветение)	45 дней	Журнал учета, ручка
5.	Определение фертильности пыльцы (сбор цветков, встряхивание пыльцы, помещение на предметное стекло, окрашивание цитокармином, помещение на микроскоп, подсчет окрашенных и неокрашенных пыльцевых зерен)	5 дней	Микроскоп без возможности получения цифровых фотографий, предметные стекла, покровные стекла, пипетка аптечная, иголки, бюксы, цитокармин, фильтровальная бумага, лампы (сушка цветов).
6.	Ягодообразование	30 дней	Журнал учета, ручка

7.	Предуборочная оценка на зараженность альтернариозом и макроспориозом.	2 дня	Журнал учета, ручка
----	---	-------	---------------------

Длительность работ и квалификация задействованных сотрудников:

В течение всего вегетационного периода картофеля.

Квалификация сотрудников: ст. научный сотрудник, мл. научный сотрудник, ст. лаборант.

Компьютерные программы: Microsoft excel, Word.

Оборудование:

Системный блок

Монитор

Принтер MF4410

Микроскоп

ПРИЛОЖЕНИЕ П

Стандартная операционная процедура «Клубневой анализ и выбраковка картофеля в период хранения»

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН (СибНИИРС)

Пересмотр через: 1 год

ФИЦ ИЦиГ СО РАН	
СОП № 10 от 21.11.2017	Стандартная операционная процедура «Клубневой анализ и выбраковка картофеля в период хранения»
Цель СОП:	Отобрать типичные здоровые клубни
Разработчик:	Сафонова А.Д.
Рабочее место:	Селекционное хранилище картофеля
Утверждено:	ФАНО России

Таблица П.1 – СОП «Клубневой анализ и выбраковка картофеля в период хранения»

№	Описание операции	Время выполне- ния	Используемые материалы и приборы
1.	Уборка, подборка и транспортировка клубневого материала в хранилище	4 дня	Лопаты, оцинкованные ведра, перчатки, тарные сетки на 3 и 20 кг, трактор с тележкой
2.	Взвешивание товарных и нетоварных клубней. Закладка на хранение выкопанных клубней	4 дня	Ведра, тарные пластмассовые ящики, весы, перчатки, полевая тетрадь
3.	Клубневой анализ (подсчет, описание и удаление больных клубней, пораженных фитофторозом, фузариозом, паршой в сильной степени, мокрой и другими грибными и бактериальными гнилями, а	5 дней	Ведра, тарные пластмассовые ящики, перчатки, бумажные пакеты 30 на 25 см, журнал учета

	также клубни с сильным растрескиванием). Набор клубней на биохимический анализ		
4.	Набор клубней на биохимический анализ	5 дней	Ведро, тарные пластмассовые ящики, перчатки, бумажные пакеты 30 на 25 см, журнал учета
5.	Транспортировка и подъем в биохимическую лабораторию	0,5 дня	Автомобиль
6.	Наблюдение и регуляция теплового режима хранения	241 день	Термометры калорифер
7.	Набор на посадку типичных выровненных здоровых клубней	5 дней	Ведро, тарные пластмассовые ящики, перчатки, бумажные пакеты 30 на 25 см, полипропиленовые мешки, журнал учета
8.	Клубневой анализ (подсчет, описание и удаление не сохранившихся больных клубней).	5 дней	Ведро, тарные пластмассовые ящики, перчатки, бумажные пакеты 30 на 25 см, полипропиленовые мешки, журнал учета

Квалификация задействованных сотрудников:

Квалификация сотрудника:

Старший научный сотрудник – 1 чел.

Младший научный сотрудник – 1 чел.

Старший лаборант – 1 чел.

Расходные материалы и личные средства защиты:

Компьютерные программы: Microsoft excel, World.

Оборудование:

Системный блок

Монитор

Принтер MF4410

ПРИЛОЖЕНИЕ Р

Стандартная операционная процедура «Внесение данных по результатам ЭГИ»

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН

Пересмотр через: 1 год

ФИЦ ИЦиГ СО РАН	
СОП № 11 от 18.10.2017	Стандартная операционная процедура «Внесение данных по результатам ЭГИ»
Цель СОП:	Внести данные по результатам ЭГИ в БД «Коллекция картофеля»
Разработчик:	Комышев Е.Г., Афонников Д.А.
Рабочее место:	Лаборатории эволюционной биоинформатики и теоретической генетики
Утверждено:	ФАНО России
Разработано на основании:	ИСО15189:2012 - 5.5.3

Таблица Р.1 – СОП «Внесение данных по результатам ЭГИ»

№	Визуализация	Описание операции	Время выполнения	Используемые материалы и приборы
1.	–	Открыть в программе программу Excel файл шаблона ввода данных	30 с	Персональный компьютер, программа Excel
2.	–	Внести результаты испытаний для сортов картофеля в поля шаблона. Сохранить файл.	5 мин	Персональный компьютер, программа Excel
3.	–	Отправить файл по электронной почте на адрес ada@bionet.nsc.ru	1 мин	Персональный компьютер, программа работы с электронной почтой

Длительность работ и квалификация задействованных сотрудников:

Суммарная длительность СОП для анализа 1 образца: 5 мин, в том числе:

1. Внесение результатов в таблицу Excel – 5 мин * количество сортообразцов в эксперименте ЭГИ;

Квалификация сотрудника:

На этапах: лаборант, обученный работе на ПК с программами Excel и электронной почтой (5 минут).

Таблица Р.2 – Компьютерные программы

Наименование (версия)	Web-ссылка на платную версию	Бесплатный аналог (если есть), ссылка
Microsoft excel	Microsoft.com	OpenOffice Excel

Оборудование:

Компьютер настольный персональный с доступом в интернет

ПРИЛОЖЕНИЕ С

Стандартная операционная процедура «Определение количественных характеристик опушения листа картофеля»

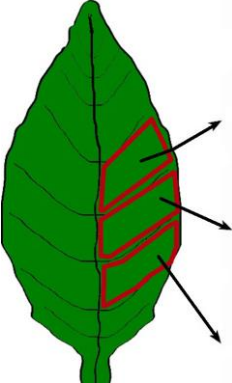
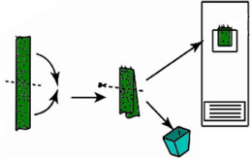
Местонахождение: ИЦиГ СО РАН

Пересмотр через: 1 год

ФИЦ ИЦиГ СО РАН	
СОП № 12 от 18.10.2017	Стандартная операционная процедура «Определение количественных характеристик опушения листа картофеля»
Цель СОП:	Оценить количественные характеристики опушения листа картофеля
Разработчик:	Дорошков А.В., Генаев М.А., Афонников Д.А.
Рабочее место:	Лаборатории эволюционной биоинформатики и теоретической генетики
Утверждено:	ФАНО России
Разработано на основании:	ИСО15189:2012 - 5.5.3 Дорошков А.В., Симонов А.В., Сафонова А.Д., Афонников Д.А., Лихенко Н.Е., Колчанов Н.А. (2016) Оценка количественных характеристик опушения листьев картофеля с использованием анализа цифровых микроизображений. Достижения науки и техники АПК. Т.30, С. 12-14. Дорошков А.В., Генаев М.А., Афонников Д.А. Протокол анализа количественных характеристик опушения листа картофеля. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(6):863-868. DOI 10.18699/VJ16.218

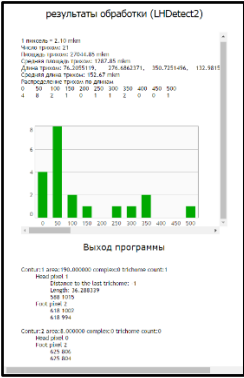
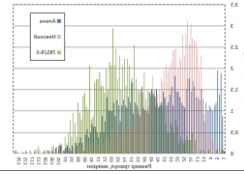
Таблица С.1 – СОП «Определение количественных характеристик опушения листа картофеля»

№	Визуализация	Описание операции	Время выполнения	Используемые материалы и приборы

1.		Сложные листья картофеля собирают в поле или теплице и опускают черешком в воду для поддержания тургора. Оптимальный размер листовой пластинки для анализа составляет 4-6 см в длину. Листья доставить в лабораторию.	30 с	Ножницы, пластиковый пакет, пластиковый стакан с водой для хранения листьев в лабораторных условиях
2.		Вырезаются фрагменты листа, заключённые между жилок	2 мин	Ножницы.
3.		Фрагмент размером около 10x20 мм сгибается пополам таким образом, чтобы анализируемая поверхность листа (абаксиальная или адаксиальная) оказалась снаружи, и помещается на предметное стекло. Фрагмент фиксируется липкой лентой таким образом, чтобы сгиб оказался свободен. Отступ края ленты от сгиба должен быть не более 2-3 мм. Образцы должны быть промаркированы маркёром с указанием генотипа растения и номера образца.	1 мин	Предметное стекло, ножницы, липкая лента, маркёр

4.		Подготовка микроскопа. Для равномерного освещения всего поля зрения объектива фронтальная линза конденсора выводится из оптической системы. Апертурная диафрагма должна быть закрыта до минимального значения. Полевая диафрагма должна быть максимально открыта для предотвращения появления затемнения углов кадра.	10 мин	Микроскоп ZEISS Axioscop 2 plus с камерой Axioscam HRc (размер CCD сенсора 2/3 дюйма) и адаптером с увеличением 0,63×. Объектив 5×. Камера микроскопа должна быть подключена к персональному компьютеру.
5.		Предметное стекло помещается под окуляр микроскопа.	30 с	Микроскоп ZEISS Axioscop 2 plus с камерой Axioscam HRc (размер CCD сенсора 2/3 дюйма) и адаптером с увеличением 0,63×. Объектив 5×, предметное стекло с образцом сгиба листа.
6.		Путем перемещения предметного стекла находится сгиб, чтобы обеспечить позиционирование границы листа в вертикальном направлении так, чтобы	2 мин	Микроскоп ZEISS Axioscop 2 plus с камерой Axioscam HRc (размер CCD сенсора 2/3 дюйма) и адаптером с

		область листа (тёмная) располагалась справа, а область фона слева. Настройкой интенсивности света и экспозиции камеры и позиции тубуса (микро- и макровинтом) необходимо добиться контрастного изображения границы сгиба и трихом.		увеличением 0,63×. Объектив 5×, предметное стекло с образцом сгиба листа.
7.	-	Сохранить изображения в формате TIFF, BMP, PNG, GIF или JPG без сжатия. Рекомендуется по возможности избегать использования формата JPG, так как даже минимальное сжатие ухудшает распознавание границ объектов. В названии сохраняемого файла должно быть сохранена маркировка образца.	2 мин	Персональный компьютер
8.		Открыть Интернет-браузер. Открыть страницу с адресом http://ru.wheatdb.org/lhdetect2_potato	30 с	Компьютер с подключением к Интернет, Интернет-браузер
9.	-	В соответствующих полях формы программы установить параметры: выбора единиц измерения, интервал расчёта длины трихом в выбранных единицах. После задания	1 мин	-

		всех параметров следует загрузить файл для обработки кнопкой «Choose File» и нажать «Process»		
10.	 результаты обработки (LHDetect2) 1 образец * 2,10 см Число трихом: 24 Угол наклона (градус): 105,45 град Средняя площадь (мкм²): 132,45 мкм² Длина трихом: 76,2051 (2) * 276,4862 (7), 355,7021 (46), 112,9611 Средняя длина трихом: 75,47 (86) Полоска по трихом по длине 0 50 100 150 200 250 300 350 400 450 500 4 8 2 1 0 1 1 2 0 0 1 Выход программы Считано: 1,000, 761,000000 отсчетов (длина считки: 1) Height pixel: 1 Distance between two lines (micrometers): 1 Length: 16,288229 Find pixel 1: 618 1176 Find pixel 2: 618 1302 618 1394 Считано: 2,000, 8,000000 отсчетов (длина считки: 2) Height pixel: 2 Find pixel 1: 625 805 625 805	В результате анализа изображения получаем суммарные данные по описанию опушения, гистограмму распределений трихом по длине, а также параметры каждой трихомы. Данные гистограммы необходимо сохранить в строке таблицы Excel. При этом в первой ячейке строки сохраняется название образца.	30 с	Компьютер с подключением к Интернет, Интернет-браузер, программа Excel
11.	-	Повторить шаги 8-10 для остальных изображений сгибов листа.	Количество изображений * 2 мин	-
12.		При необходимости, организовать данные в виде гистограммы и провести их статистическую обработку	1 час	Компьютер Программа для статистической обработки данных

Длительность работ и квалификация задействованных сотрудников:

Суммарная длительность СОП для анализа 1 образца без учета транспортировки: 10 мин, в том числе:

1. Приготовление препарата – 3,5 мин;
2. Микроскопирование – 4,5 мин;
3. Обработка данных с помощью компьютерных программ – 2 мин.

Время настройки микроскопа 10 мин, 1 раз за сессию обработки данных.

Для одного растения необходимо обработать минимальное количество 3 образцов сгибов с разных листьев. Для одного сорта/генотипа необходимо обработать минимум 3 растения. Итого на получение данных для одной единицы хранения (генотип) требуется 1.5 часа.

Квалификация сотрудника:

На этапах 1-11: лаборант, обученный работе на микроскопе и с компьютерной программой LHDetect2 (10 минут).

На этапе 12: научный сотрудник (1 час)

Таблица С.2 – Детализация по используемым материалам, компьютерным программам и оборудованию: расходные материалы и личные средства защиты

Наименование	Единица измерения	Израсходовано единиц (для многократных ставится дробное число: 1/п, где п – сколько раз можно использовать)
Ножницы	шт.	1/100
Предметное стекло	шт.	1,00
Халат лабораторный	шт.	0,01
Перчатки нитриловые	пара	1,00
Липкая лента (скотч)	рулон	1/200

Таблица С.3 – Компьютерные программы

Наименование (версия)	Web-ссылка на платную версию	Бесплатный аналог (если есть), ссылка
LHDetect2	-----	http://ru.wheatdb.org/lhdetect2_potato
Microsoft excel	Microsoft.com	OpenOffice Excel

Оборудование:

Микроскоп ZEISS Axioscop 2 plus с камерой AxioCam HRc (размер CCD сенсора 2/3 дюйма) и адаптером с увеличением 0,63х. Объектив 5х

Компьютер настольный персональный с доступом в интернет

ПРИЛОЖЕНИЕ Т

Стандартная операционная процедура
«Выделение крахмала из клубней картофеля»

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН

Пересмотр через: 1 год

ФИЦ ИЦиГ СО РАН	
СОП № 13 от 24.07.2017	Стандартная операционная процедура «Выделение крахмала из клубней картофеля»
Цель СОП:	Получение образцов крахмала из клубней разных сортов и гибридов картофеля
Разработчик:	Хлесткин В.К., Эрст Т.В.
Рабочее место:	Лаборатории контроля качества продукции или сырья, аналитические
Утверждено:	ФАНО России
Разработано на основании:	Практическое руководство по оценке морфологии гранул картофельного крахмала методом микроскопирования (Хлесткин В.К., Эрст Т.В.). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(6):728-734. DOI 10.18699/VJ17.290

Таблица Т.1 – СОП «Выделение крахмала из клубней картофеля»

№	Визуализация	Описание операции	Время выполнения	Используемые материалы и приборы
1.		Отобрать два-три характерных для данного сорта или гибрида клубня картофеля без повреждений (средний вес одного клубня составляет примерно 100 г). Если количество картофеля позволяет, можно взять 5-6 и более клубней и использовать	3 мин	Бумажный пакет для клубней

		их равные сектора (например, половины).		
2.		Клубни отмыть от земли, высушить от воды после мытья, взвесить.	15 мин	Весы аналитические Вода водопроводная для мытья
3.		Измельчить все отобранные клубни или их части с использованием центрифужной соковыжималки, пропустив биомассу клубня через устройство. Центрифужное устройство соковыжималки должно иметь отверстия не более 0,3 мм. Собрать картофельный сок с крахмалом.	5 мин	Центрифужная соковыжималка
4.	-	Собрать мезгу с элементов устройства, смешать с 250 мл дистиллированной воды и еще раз измельчить, и отжать на соковыжималке. Собрать воду с остатками крахмала. Собрать мезгу с элементов устройства.	7 мин	Центрифужная соковыжималка
5.		Полученную мезгу высушить, при температуре до 50 °С. Взвесить.	3 ч при 50 °С, 2 сут при 20 °С	Чашки Петри

6.	-	Смешать обе порции отжатого сока с крахмалом, дать отстояться при комнатной температуре с образованием слоя крахмала на дне	90 мин	Стакан на 400 мл
7.	-	Декантировать водный слой	30 с	
8.		Добавить к крахмалу 200 мл дистиллированной воды, взболтать, дать отстояться при комнатной температуре с образованием слоя крахмала на дне	90 мин	Стакан на 400 мл
9.	-	Декантировать водный слой	30 с	
10.		Добавить к крахмалу 200 мл дистиллированной воды, взболтать, дать отстояться при комнатной температуре с образованием слоя крахмала на дне	90 мин	Стакан на 400 мл
11.	-	Декантировать водный слой	30 с	
12.		Перенести шпателем крахмал на чашку Петри и высушить при температуре до 40 °С, периодически помешивая	2 сут	Шпатель, чашки Петри
13.		Взвесить крахмал, рассчитать препаративный выход, упаковать для хранения	5 мин	Весы аналитические, пакеты или тара для хранения крахмала
14.	-	При необходимости осушить крахмал, поместив его тонким слоем в чашке Петри в эксикатор над щелочью	2-3 ч	Эксикатор, чашка Петри, щелочь.

Длительность работ и квалификация задействованных сотрудников:

Суммарная длительность СОП для анализа 1 образца: 56,11 часа, в том числе:

1. Приготовление образца крахмала – 5,11 часа;
2. Сушка крахмала и мезги – до 51 часа.

Квалификация сотрудника:

Инженер, лаборант.

Детализация по используемым материалам, компьютерным программам и оборудованию:

Таблица Т.2 – Расходные материалы и личные средства защиты

Наименование	Единица измерения	Израсходовано единиц (для многократных ставится дробное число: 1/п, где п – сколько раз можно использовать)
Шпатель	шт.	1,00
Стакан пластиковый	шт.	1,00
Эксикатор	шт.	1
Халат лабораторный	шт.	0,01
Перчатки нитриловые	пара	1,00
Чашка Петри	шт.	4
Щелочь (гидроксид натрия)	г	20

Оборудование:

Весы аналитические (Adventurer AX124 производитель Ohaus)

Центрифужная соковыжималка Scarlett IS- JE50S15

ПРИЛОЖЕНИЕ У

Стандартная операционная процедура «Определение морфологии гранул крахмала»

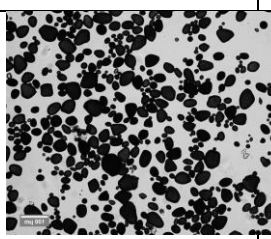
Местонахождение: ИЦиГ СО РАН

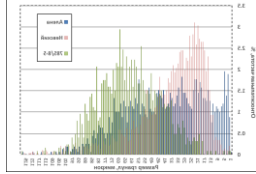
Пересмотр через: 1 год

ФИЦ ИЦиГ СО РАН	
СОП № 14 от 24.07.2017	Стандартная операционная процедура «Определение морфологии гранул крахмала»
Цель СОП:	Упорядочить процесс анализа свойств крахмала
Разработчик:	Хлесткин В.К., Эрст Т.В.
Рабочее место:	Лаборатории контроля качества продукции или сырья, аналитические
Утверждено:	ФАНО России
Разработано на основании:	ИСО15189:2012 - 5.5.3 Практическое руководство по оценке морфологии гранул картофельного крахмала методом микроскопирования (Хлесткин В.К., Эрст Т.В.). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(6):728-734. DOI 10.18699/VJ17.290

Таблица У.1 – СОП «Определение морфологии гранул крахмала»

№	Визуализация	Описание операции	Время выполнения	Используемые материалы и приборы
1.		Шпателем измельчить 5 мг крахмала, поместить в пробирку типа Eppendorf (1,5 мл).	1 мин	Весы аналитические Шпатель Пробирка Eppendorf 1,5 мл или аналогичная

2.		Добавить 1 мл дистиллированной воды.	30 с	Пипетка-дозатор (100-1000 мкл). Вода дистиллированная.
3.		К полученной смеси добавить 50 мкл раствора иода в водно-спиртовой смеси. Встряхнуть на вортексе.	30 с	Разбавленная в 200 раз смесью спирта с водой (1:1) аптечная иодная настойка. Вортекс.
4.		Пипетированием взболтать содержимое пробирки до состояния суспензии и отсутствия осадка окрашенного крахмала на дне, нанести 20 мкл суспензии на предметное стекло и накрыть покровным стеклом.	30 с	Пипетка-дозатор (20-200 мкл) Предметное стекло Покровное стекло
5.		Получить не менее 4 микрофотографий с разных участков образца крахмала (250–350 гранул в каждом изображении).	20 мин	Микроскоп с возможностью получения цифровых фотографий
6.	-	Откалибровать ImageJ для работы с изображениями в микрометрах.	3 мин	Компьютер Программа ImageJ
7.	-	Открыть изображение гранул крахмала.	30 с	Компьютер Программа ImageJ
8.	-	Выполнить преобразование в 8-мибитный рисунок Image → Type → 8 bit.	30 с	Компьютер Программа ImageJ

9.	-	Установить пределы распознавания Image → Adjust → Threshold..., нажать «Apply».	1 мин	Компьютер Программа ImageJ
10.	-	Разделить соприкасающиеся частицы Process → Binary → Watershed	30 с	Компьютер Программа ImageJ
11.	-	Выбрать измеряемые параметры Analyze → Set measurements...	2 мин	Компьютер Программа ImageJ
12.	-	Провести измерение Analyze → Analyze particles...	30 с	Компьютер Программа ImageJ
13.	-	Скопировать или сохранить результаты измерений из получившейся таблицы в формате, читаемом программой для последующей обработки, например, Excel.	1 мин	Компьютер Программа ImageJ
14.	-	Повторить шаги 7-13 для остальных изображений этого же образца.	3*6 мин	Компьютер Программа ImageJ
15.		При необходимости, организовать данные в виде гистограммы.	10 мин	Компьютер Программа для статистической обработки данных

Длительность работ и квалификация задействованных сотрудников:

Суммарная длительность СОП для анализа 1 образца: 59,5 мин, в том числе:

1. приготовление препарата – 2,5 мин;
2. микроскопирование – 20 мин;
3. обработка данных с помощью компьютерных программ – 37 мин;
4. перемещение из комнаты в комнату в процессе процедуры – 0,5 мин.

Квалификация сотрудника:

На этапах 1–14: инженер, обученный работе на микроскопе и с компьютерной программой ImageJ (50 мин).

На этапе 15: научный сотрудник (10 мин).

Таблица У.2 – Расходные материалы и личные средства защиты

Наименование	Единица измерения	Израсходовано единиц (для многократных ставится дробное число: 1/п, где п – сколько раз можно использовать)
Шпатель	шт.	1,00
Предметное стекло	шт.	1,00
Покровное стекло	шт.	1,00
Халат лабораторный	шт.	0,01
Перчатки нитриловые	пара	1,00
Дозатор (20–200 мкл)	шт.	0,01
Дозатор (100–1000 мкл)	шт.	0,01
Наконечник пластиковый на пипетку – 200 мкл	шт.	1,00
Наконечник пластиковый на пипетку – 1000 мкл	шт.	1,00
Пробирка пластиковая 1,5 мл	шт.	1,00

Таблица У.3 – Компьютерные программы

Наименование (версия)	Web-ссылка на платную версию	Бесплатный аналог (если есть), ссылка
ImageJ	-----	http://imagej.net/Welcome
Microsoft excel	Microsoft.com	OpenOffice Excel

Оборудование:

Весы аналитические (Adventurer AX124 производитель Ohaus)

Микроскоп (Axio Scope A1 Carl ZEISS)

Компьютер (Asus Китай)

Вортекс персональный для пробирок

ПРИЛОЖЕНИЕ Ф

Стандартная операционная процедура «Выделение и проверка качества ДНК картофеля из клубней»

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН

Пересмотр через: 1 год

ФИЦ ИЦиГ СО РАН	
СОП № 15 от 25.11.2017	Стандартная операционная процедура «Выделение и проверка качества ДНК картофеля из клубней»
Цель СОП:	Упорядочить процесс выделения ДНК из клубней картофеля и анализ качества выделенной ДНК
Разработчик:	Тоцкий И.В.
Рабочее место:	Лаборатория ДНК паспортизации и молекулярной селекции картофеля
Утверждено:	ФАНО России
Разработано на основании:	Инструкции производителя к набору Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Германия)

Таблица Ф.1 – СОП «Выделение и проверка качества ДНК картофеля из клубней»

№	Визуализация	Описание операции	Время выполнения, квалификация	Используемые материалы и приборы
Гомогенизация тканей растения				
1.	-	Набрать жидкий азот в ёмкость для работы с растительным материалом	30 с, лаборант, м.н.с.	Жидкий азот, ёмкость для льда и жидкого азота
2.	-	Набрать жидкий азот в ёмкость для хранения пробирок	30 с, лаборант, м.н.с.	Жидкий азот, ёмкость для льда и жидкого азота
3.	-	В чашку Петри скальпелем соскоблить верхний слой с кожуры, не задев мякоть, содержащую крахмал	2 мин, лаборант, м.н.с.	Чашка Петри, скальпель

4.	-	Налить жидкий азот в фарфоровую ступку	30 с, лаборант, м.н.с.	Фарфоровая ступка с фарфоровым пестиком, жидкий азот, ёмкость для льда и жидкого азота
5.	-	Поместить растительный материал в фарфоровую ступку с жидким азотом	30 с, лаборант, м.н.с.	Фарфоровая ступка с фарфоровым пестиком, жидкий азот
6.	-	Растереть пестиком растительный материал в ступке, заполненной жидким азотом	2 мин, лаборант, м.н.с.	Фарфоровая ступка с фарфоровым пестиком, жидкий азот
7.	-	Второй раз долить жидкий азот в ступку и повторить растирание до порошкообразной массы	2 мин 30 с, лаборант, м.н.с.	Фарфоровая ступка с фарфоровым пестиком, жидкий азот, ёмкость для льда и жидкого азота
8.	-	Третий раз долить жидкий азот в ступку, промыть им стенки ступки и подождать его испарения	2 мин 30 с, лаборант, м.н.с.	Фарфоровая ступка с фарфоровым пестиком, жидкий азот, ёмкость для льда и жидкого азота
9.		Шпателем перенести 100 мг перетёртого растительного материала из ступки в 2 мл пробирку, находящуюся в охлаждённом жидким азотом штативе	1 мин, лаборант, м.н.с.	Шпатель, пинцет, пробирка 2 мл, лабораторные весы, штатив, жидкий азот, ёмкость для льда и жидкого азота
Выделение ДНК набором Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)				

10.		Приготовить в 1,5 мл пробирке буфер, смешав 400 мкл буфера AP1 (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)) и 4 мкл RNaseA (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)), перемешать пипетированием	1 мин, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (0,5-10 мкл), пипетка-дозатор (100-1000 мкл), пинцет, пробирка 1,5 мл, набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250), буфер AP1, RNaseA
11.		Добавить в пробирку с образцом приготовленный буфер	30 с, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (100-1000 мкл)
12.		Перемешать содержимое пробирки на вортексе	30 с, лаборант, м.н.с.	Вортекс
13.		Поместить пробирку на 10 мин в водяную баню, предварительно нагретую до 65 °С, перевернуть пробирку в водяной бане 2-3 раза в течение инкубации	10 мин, лаборант, м.н.с.	Водяная баня
14.	-	Добавить в пробирку 130 мкл буфера P3 (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250))	30 с, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (20-200 мкл), набор для выделения ДНК Qiagen

				DNeasy Plant Mini Kit (250), буфер P3
15.	-	Перемешать содержимое пробирки на вортексе	30 с, лаборант, м.н.с.	Вортекс
16.	-	Инкубировать пробирку на льду в течение 5 мин.	5 мин, лаборант, м.н.с.	Ёмкость для льда, лёд
17.		Поместить пробирку в центрифугу и центрифугировать лизат в течение 5 мин при 20000xg	5 мин, лаборант, м.н.с.	Центрифуга
18.	-	Перенести лизат в фиолетовую колонку (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)), пробирку с оставшимся лизатом и осадком не выкидывать	1 мин, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (100-1000 мкл), набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250), фиолетовая колонка
19.	-	Поместить фиолетовую колонку (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)) в центрифугу и центрифугировать 2 мин при 20000xg	2 мин, лаборант, м.н.с.	Центрифуга
20.	-	Поместить пробирку с оставшимся лизатом и осадком в центрифугу и центрифугировать лизат в течение 5 мин при 20000xg	5 мин, лаборант, м.н.с.	Центрифуга

21.	-	Перенести лизат в ту же фиолетовую колонку (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)), что использовалась в предыдущем центрифугировании	1 мин, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (100-1000 мкл), набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250), фиолетовая колонка
	-	Поместить фиолетовую колонку (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)) в центрифугу и центрифугировать 2 мин при 20000xg	2 мин, лаборант, м.н.с.	Центрифуга
22.	-	Перенести фильтрат в чистую 2 мл пробирку без крышки (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250))	30 с, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (100-1000 мкл), набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250), пробирка без крышки 2 мл
23.	-	Данный пункт выполняется только в случае, если набор используется впервые! Добавить в буфер AW1 302 мл 96-100% этанола.	1 мин, лаборант, м.н.с.	мерный цилиндр 250 мл, стакан с носиком 250 мл
24.	-	Добавить в пробирку 1,5V (от объёма фильтрата) буфера AW1 (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250))	30 с, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (100-1000 мкл), набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy

		и перемешать пипетированием		Plant Mini Kit (250), буфер AW1
25.	-	650 мкл смеси фильтрата и буфера AW1 (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)) перенести в белую колонку (DNeasy Mini spin column) (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)).	30 с, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (100-1000 мкл), набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250), белая колонка (DNeasy Mini spin column)
26.	-	Поместить белую колонку (DNeasy Mini spin column) (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)) в центрифугу и центрифугировать 1 мин при 6000g	1 мин, лаборант, м.н.с.	Центрифуга
27.	-	Удалить смыв из белой колонки (DNeasy Mini spin column) (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250))	30 с, лаборант, м.н.с.	
28.	-	Перенести оставшуюся смесь фильтрата и буфера AW1 (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)) в белую колонку (DNeasy Mini spin column) (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)).	30 с, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (100–1000 мкл)

29.	-	Поместить белую колонку (DNeasy Mini spin colume) (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)) в центрифугу и центрифугировать 1 мин при 6000g	1 мин, лаборант, м.н.с.	Центрифуга
30.	-	Удалить смыв из белой колонки (DNeasy Mini spin colume) (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250))	30 с, лаборант, м.н.с.	
31.	-	Перенести белый фильтр из белой колонки (DNeasy Mini spin colume) (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)) в чистую 2 мл пробирку без крышки (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250))	30 с, лаборант, м.н.с.	Набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250), пробирка без крышки 2 мл
32.	-	Данный пункт выполняется только в случае, если набор используется впервые! Добавить в буфер AW2 95 мл 96–100% этанола.	1 мин, лаборант, м.н.с.	мерный цилиндр 100 мл, стакан с носиком 100 мл
33.	-	Добавить в фильтр, помещённый в пробирку, 500 мкл буфера AW2 (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250))	30 с, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (100-1000 мкл), набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250), буфер AW2

34.	-	Поместить пробирку с фильтром в центрифугу и центрифугировать в течение 1 мин при 6000g	1 мин, лаборант, м.н.с.	Центрифуга
35.	-	Удалить смыв из пробирки	30 с, лаборант, м.н.с.	
36.	-	Добавить в фильтр, помещённый в пробирку, 500 мкл буфера AW2 (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250))	30 с, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (100–1000 мкл), набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250), буфер AW2
37.	-	Поместить пробирку с фильтром в центрифугу и центрифугировать в течение 1 мин при 20000 g	1 мин, лаборант, м.н.с.	Центрифуга
38.	-	Удалить смыв из пробирки	30 с, лаборант, м.н.с.	
39.	-	Перенести белый фильтр в новую 2 мл пробирку без крышки (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250))	30 с, лаборант, м.н.с.	Набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250), пробирка без крышки 2 мл
40.	-	Добавить в фильтр, помещённый в пробирку, 100 мкл буфера AE (набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)) чтобы элюировать и инкубировать в течение 5	5 мин 30 с, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (10-100 мкл), набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250), буфер AE

		мин при комнатной температуре (15–25 °C)		
41.	-	Поместить пробирку с фильтром в центрифугу и центрифугировать в течение 1 мин при 6000g	1 мин, лаборант, м.н.с.	Центрифуга
42.	-	Отобрать фильтрат из пробирки и поместить его в тот же белый фильтр что использовался в предыдущем фильтровании, поместить фильтр с повторно внесённым буфером в пробирку из которой отбирался фильтрат, элюировать и инкубировать в течение 5 мин при комнатной температуре (15–25 °C)	5 мин 30 с, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (10-100 мкл), набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250), буфер AE
43.	-	Поместить пробирку с фильтром в центрифугу и центрифугировать в течение 1 мин при 6000g	1 мин, лаборант, м.н.с.	Центрифуга
44.	-	Белый фильтр выкинуть, содержимое 2 мл пробирки без крышки перенести в 1,5 мл пробирку, пробирку с ДНК поместить в штатив, поставить в морозилку и хранить при –20 °C	30 с, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (100-1000 мкл), пинцет, 1,5 мл пробирка, штатив, морозильная камера
Проверка концентрации ДНК на спектрофотометре для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000				

45.	-	Двойным щелчком мыши по иконке запустить программу NanoDrop 2000	5 с, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000
46.	-	На главной странице в графе «Group» выбрать пункт «Classic»	5 с, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000
47.	-	На главной странице нажать кнопку интерфейса «Nucleic acid»	5 с, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000
48.	-	Нанести на микроячейку 1 мкл деионизованной воды и опустить пробоотборник на 30 с.	1 мин, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000, пипетка-дозатор (0,5-10 мкл), деионизованная автоклавированная вода

49.	-	Поднять пробоотборник и положить на микроячейку фильтровальную бумагу, - опустить пробоотборник на 30 с.	1 мин, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000, фильтровальная бумага
50.	-	Поднять пробоотборник убрать фильтровальную бумагу, нанести на микроячейку 1 мкл буфера АЕ и опустить пробоотборник.	1 мин, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000, пипетка-дозатор (0,5-10 мкл), набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250), буфер АЕ
51.	-	Нажать кнопку интерфейса «Blank» для вычитания значения растворителя, с которым будут сравниваться измерения концентрации образцов ДНК	5 с, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000
52.	-	Поднять пробоотборник и положить на микроячейку фильтровальную бумагу, опустить пробоотборник на 30 с.	1 мин, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер,

				программа NanoDrop 2000, фильтровальная бумага
53.	-	Поднять пробоотборник, нанести на микроячейку 1 мкл деионизованной воды и опустить пробоотборник на 30 с.	1 мин, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъемов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000, пипетка-дозатор (0,5-10 мкл), деионизованная вода
54.	-	Поднять пробоотборник и положить на микроячейку фильтровальную бумагу, опустить пробоотборник на 30 с.	1 мин, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъемов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000, фильтровальная бумага
55.	-	Поднять пробоотборник, убрать фильтровальную бумагу, нанести на микроячейку 1 мкл выделенной ДНК образца и опустить пробоотборник.	1 мин, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъемов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000, пипетка-дозатор (0,5-10 мкл),

				образец ДНК в 1,5 мл пробирке
56.	-	В графе «Sample ID» впечатать номер или название образца	30 с, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000
57.	-	Нажать кнопку интерфейса «Measure» для измерения концентрации ДНК	5 с, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000
58.	-	Для экспорта данных нужно выбрать пункт «Reports»	5 с, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000
59.	-	Нажать кнопку интерфейса «Export»	5 с, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000
60.	-	В появившемся окне ввести имя файла (расширение по умолчанию *.xml)	30 с, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000,

				компьютер, программа NanoDrop 2000
61.	-	Нажать кнопку интерфейса «Сохранить»	5 с, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000
62.	-	Для возврата на заглавное меню программы выбрать пункт «Home»	5 с, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000
63.	-	Закрыть программу NanoDrop 2000	5 с, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, компьютер, программа NanoDrop 2000
64.	-	Поднять пробоотборник и положить на микроячейку фильтровальную бумагу, опустить пробоотборник на 30 с.	1 мин, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, фильтровальная бумага
65.	-	Поднять пробоотборник, нанести на микроячейку 1 мкл деионизированной воды	1 мин, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000,

		и опустить пробоотборник на 30 с.		пипетка-дозатор (0,5–10 мкл), деионизованная вода
66.	-	Поднять пробоотборник и положить на микроячейку фильтровальную бумагу, опустить пробоотборник на 30 с.	1 мин, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000, фильтровальная бумага
67.	-	Поднять пробоотборник, убрать фильтровальную бумагу, опустить пробоотборник.	1 мин, лаборант, м.н.с.	Спектрофотометр для микрообъёмов Thermo Scientific NanoDrop 2000
68.	-	Пробирку с ДНК поместить в штатив, поставить в морозилку и хранить при –20 °С	30 с, лаборант, м.н.с.	Штатив, морозильная камера
Приготовление рабочих растворов для электрофореза в агарозном геле				
69.		Приготовить 25 мл 18 N NaOH налив 25 мл дистиллированной воды в колбу объёмом 100 мл и добавляя небольшими порциями 18 г NaOH	3 мин, лаборант, м.н.с.	Шпатель, лабораторные весы, колба коническая 100 мл термостойкая, мерный цилиндр 100 мл, стакан с носиком 100 мл
70.	-	Приготовить 100 мл 0,5 молярного раствора ЭДТА- $\text{Na}_2\text{x}2\text{H}_2\text{O}$ (рН 8,0), положив 18,6 г ЭДТА- $\text{Na}_2\text{x}2\text{H}_2\text{O}$ (рН 8,0) в 250 мл колбу, налить 75 мл дистиллированной	5 мин, лаборант, м.н.с.	Шпатель, лабораторные весы, колба коническая 250 мл, мерный цилиндр 100 мл,

		воды и довести pH до 8,0 добавляя 25 мл 18 N NaOH		стакан с носиком 100 мл
71.	-	Приготовить ТАЕ (буферный раствор трис ацетатный) 50х, для чего в колбе 1000 мл нужно смешать 242 г триса основного и 100 мл 0,5 М раствора ЭДТА- $\text{Na}_2\text{x}2\text{H}_2\text{O}$ (pH 8,0), а затем добавить небольшими порциями 57 мл ледяной уксусной кислоты. Смесь доводят дистиллированной водой до 1 л. Хранить в холодильнике при 4 °С.	3 мин, лаборант, м.н.с.	Шпатель, лабораторные весы, колба коническая 1000 мл, мерный цилиндр 100 мл, стакан с носиком 100 мл, фильтровальная бумага, холодильная камера
72.	-	Приготовить буфер ТАЕ 1х, для чего взять 60 мл концентрированного раствора ТАЕ 50х, внести в колбу 3000 мл и довести объём буферного раствора до 3 л дистиллированной водой.	3 мин, лаборант, м.н.с.	Колба коническая 3000 мл, мерный цилиндр 100 мл, стакан с носиком 100 мл.
73.	-	Приготовить раствор бромистого этидия 20 мг/мл. 2 г бромистого этидия добавить к 100 мл дистиллированной воды в бутылке 100 мл из тёмного стекла. Размешать реагент в воде на магнитной мешалке до полного растворения. Хранить в тёмной посуде в холодильнике при 4 °С.	2 ч, лаборант, м.н.с.	Шпатель, лабораторные весы, бутылка 100 мл из тёмного стекла, мерный цилиндр 100 мл, стакан с носиком 100 мл, магнитная мешалка, холодильная камера

74.	-	Приготовить 125 мл 1% агарозы, для чего в 250 мл колбу вносят 1,25 г агарозы, добавляют 2,5 мл ТАЕ 50х и доводят объём до 125 мл дистиллированной водой. Раствор агарозы плавят в микроволновой печи.	5 мин, лаборант, м.н.с.	Шпатель, лабораторные весы, колба коническая 250 мл термостойкая, мерный цилиндр 250 мл, стакан с носиком 150 мл, микроволновая печь
75.	-	Приготовить 125 мл 2% агарозы, для чего в 250 мл колбу вносят 2,5 г агарозы, добавляют 2,5 мл ТАЕ 50х и доводят объём до 125 мл дистиллированной водой. Раствор агарозы плавят в микроволновой печи.	5 мин, лаборант, м.н.с.	Шпатель, лабораторные весы, колба коническая 250 мл термостойкая, мерный цилиндр 250 мл, стакан с носиком 150 мл, микроволновая печь
76.	-	Приготовление красителя для электрофореза. В 100 мл колбу налить 50 мл глицерина, 50 мл дистиллированной воды, добавить 0,25 г бромфенолового синего и 0,25 г ксиленцианола голубого, размешать (далее «краситель»)	3 мин, лаборант, м.н.с.	Шпатель, лабораторные весы, колба коническая 100 мл термостойкая, мерный цилиндр 100 мл, стакан с носиком 100 мл
Проведение гель-электрофореза				
77.	-	Налить 3 л буфера ТАЕ 1х в камеру для горизонтального электрофореза	2 мин, лаборант, м.н.с.	Камера для горизонтального электрофореза

78.	-	Закрепить подложку для геля на заливочном столике	1 мин, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, заливочный столик
79.	-	Соединить держатель для гребёнки с гребёнкой	1 мин, лаборант, м.н.с.	Держатель для гребёнки, гребёнка
80.	-	Установить держатель для гребёнки с гребёнкой на подложке для геля	30 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, заливочный столик, держатель для гребёнки, гребёнка
81.	-	Расплавить 1%-й раствор агарозы в микроволновой печи. Агарозный гель должен находиться в 250 мл конической колбе из термостойкого стекла	2 мин, лаборант, м.н.с.	Микроволновая печь
82.	-	После охлаждения 1% раствора сахарозы приблизительно до 50 °С добавить в него несколько капель раствора бромистого этидия (20 мг/мл) и перемешать	5 мин, лаборант, м.н.с.	Пипетка Пастера 1,5 мл
83.	-	Перелить жидкий 1% раствор агарозы с бромистым этидием в подложку для геля, если при переливании образовались пузыри, убрать их при помощи препаровальной иглы. Ждать пока гель затвердеет.	20 мин, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, заливочный столик, держатель для гребёнки, гребёнка, препаровальная игла

84.	-	Снять с заливочного столика подложку с затвердевшим гелем и держателем для гребёнки с гребёнкой и переместить их в камеру для горизонтального электрофореза	30 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, заливочный столик, держатель для гребёнки, гребёнка, камера для горизонтального электрофореза
85.	-	В пробирку 0,2 мл переносят 30–50 нг ДНК в объёме 1–10 мкл ДНК и добавляют 1 мкл «красителя»	1 мин, лаборант, м.н.с.	Пробирка 0,2, пипетка-дозатор (0,5–10 мкл)
86.	-	Пробирку, содержащую ДНК с «красителем», перемешивают на вортексе	30 с, лаборант, м.н.с.	Вортекс
87.	-	Пробирку, содержащую ДНК с «красителем», кратко центрифугируют на лабораторной центрифуге в течение 10 с при 2000g	15 с, лаборант, м.н.с.	Лабораторная центрифуга
88.	-	Убрать держатель для гребёнки с гребёнкой	30 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, держатель для гребёнки, гребёнка, камера для горизонтального электрофореза
89.	-	Нанести в первую лунку геля 2 мкл ДНК-маркёра 100bp+ готового к нанесению	30 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, пипетка-дозатор (0,5–10 мкл)
90.	-	Нанести во вторую лунку геля 30–50 нг ДНК (в объёме	30 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального

		1–10 мкл смеси ДНК с «красителем»)		электрофореза, пипетка-дозатор (0,5–10 мкл)
91.	-	Закрыть крышку камеры для горизонтального электрофореза	5 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза
92.	-	Подключить электроды камеры для проведения электрофореза к источнику питания	30 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, источник питания
93.	-	Включить источник питания	5 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, источник питания
94.	-	Нажать Клавишу постоянного Параметра на индикатор напряжения (V)	5 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, источник питания
95.	-	Ввести значение напряжения 70 V при помощи Клавиши прокрутки (обозначена +/-)	30 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, источник питания
96.	-	Запустить работу, нажав Клавишу Запуск работы, ждать пока ДНК пройдёт 6,7 см.	30 мин, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, источник питания

97.	-	Нажать клавишу Остановки. Выключить источник питания.	5 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, источник питания
98.	-	Снять крышку камеры для горизонтального электрофореза, вынуть подложку для геля с гелем, заккрыть крышку камеры для горизонтального электрофореза	1 мин, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза
99.	-	Включить систему Molecular Imager Gel Doc XR+ System (BioRad) для гель- документации	5 с, лаборант, м.н.с.	Система гель- документации
100.	-	Открыть лоток прибора и переложить на него гель из подложки, закрыть лоток.	1 мин, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, система гель- документации
101.	-	Включить программу «Quantity One»	5 с, лаборант, м.н.с.	Система гель- документации, компьютер
102.	-	В появившемся окне нажать кнопку «Basic»	5 с, лаборант, м.н.с.	Система гель- документации, компьютер
103.	-	В появившемся окне выбрать пункт «Select Scanner»	5 с, лаборант, м.н.с.	Система гель- документации, компьютер
104.	-	В появившемся окне выбрать пункт «Gel Doc XR...»	5 с, лаборант, м.н.с.	Система гель- документации, компьютер
105.	-	В появившемся окне в разделе «Step 2» нажать кнопку «Epi	5 с, лаборант, м.н.с.	Система гель- документации, компьютер

		White» для включения дневного освещения		
106.	-	Переместить гель в лотке на необходимое место для фотографирования, используя изображение на мониторе	1 мин, лаборант, м.н.с.	Система гель- документации, компьютер
107.	-	В отделе «Step1» настроить фокус с использованием кнопок «Near» и «Far» и увеличение с использованием кнопок «Tale» и «Wide»	1 мин, лаборант, м.н.с.	Система гель- документации, компьютер
108.	-	В отделе «Step 2» нажать кнопку «Trans UV» для включения ультрафиолетового освещения	5 с, лаборант, м.н.с.	Система гель- документации, компьютер
109.	-	Нажать на кнопку «Save»	5 с, лаборант, м.н.с.	Система гель- документации, компьютер
110.	-	В появившемся окне выбрать папку для сохранения и впечатать имя файла (расширение по умолчанию *.1sc)	1 мин, лаборант, м.н.с.	Система гель- документации, компьютер
111.	-	В меню File выбрать пункт Export to JPEG Image	5 с, лаборант, м.н.с.	Система гель- документации, компьютер
112.	-	В появившемся окне выбрать папку для сохранения и впечатать имя файла (расширение по умолчанию *.jpg)	1 мин, лаборант, м.н.с.	Система гель- документации, компьютер

113.	-	Заккрыть программу «Quantity One»	5 с, лаборант, м.н.с.	Система гелъ-документации, компьютер
114.	-	Выключить систему Molecular Imager Gel Doc XR+ System (BioRad) для гелъ-документации	5 с, лаборант, м.н.с.	Система гелъ-документации, компьютер
115.	-	Гелъ разрезать и сложить в колбу, поместить в холодильник и хранить при 4 °С	1 мин, лаборант, м.н.с.	Холодильная камера, скальпель
Создание программы ПЦР на амплификаторе (необходимо только один раз)				
116.	-	Нажать кнопку «Menu»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
117.	-	Выбрать пункт «Новая», нажать кнопку «Enter»	10 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
118.	-	Выбрать пустой слот с надписью «НЕТ», нажать кнопку «Enter»	30 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
119.	-	Ввести название программы, используя кнопки «↑», «↓», «→», «←» – «SSR60», нажать кнопку «Enter», во всплывшем окне с запросом не является ли создаваемая программа копией выбрать ответ «Нет», нажать кнопку «Enter»	2 мин, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
120.	-	Нажать «Enter», когда стрелка указывает на «Шаг 1»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор

121.	-	В пунктах «Сегмент» и «Цикл» выбрать необходимую цифру «1» и «01» соответственно, нажать кнопку «Enter»	1 мин, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
122.	-	Нажать кнопку «↓», нажать кнопку «Enter»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
123.	-	Выбрать температуру «Т1» – 94 °С, время «t» – 2м00с, нажать кнопку «Enter»	1 мин, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
124.	-	Пропустить пункты изменения температуры и времени «dT», «dt», «R», «dR», нажать кнопку «Enter»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
125.	-	Нажать кнопку «↓» и перейти к Шагу 2, нажать кнопку «Enter»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
126.	-	В пунктах «Сегмент» и «Цикл» выбрать необходимую цифру «3» и «45» соответственно, нажать кнопку «Enter»	1 мин, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
127.	-	Нажать кнопку «↓», нажать кнопку «Enter» на пункте выбора «Т1» и «t»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
128.	-	Выбрать температуру «Т1» – 94 °С и время «t» – 1м00с, нажать кнопку «Enter»	1 мин, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
129.	-	Пропустить пункты изменения температуры и времени «dT», «dt», «R», «dR», нажать кнопку «Enter»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор

130.	-	Нажать кнопку «↓», нажать кнопку «Enter» на пункте выбора «T2» и «t»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
131.	-	Выбрать температуру «T2» – 60 °С и время «t» – 1м00с, нажать кнопку «Enter»	1 мин, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
132.	-	Пропустить пункты изменения температуры и времени «dT», «dt», «R», «dR», нажать кнопку «Enter»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
133.	-	Нажать кнопку «↓», нажать кнопку «Enter» на пункте выбора «T3» и «t»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
134.	-	Выбрать температуру «T3» – 72 °С и время «t» – 2м00с, нажать кнопку «Enter»	1 мин, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
135.	-	Пропустить пункты изменения температуры и времени «dT», «dt», «R», «dR», нажать кнопку «Enter»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
136.	-	Нажать кнопку «↓» и перейти к Шагу 3, нажать кнопку «Enter»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
137.	-	В пунктах «Сегмент» и «Цикл» выбрать необходимую цифру «1» и «01» соответственно, нажать кнопку «Enter»	1 мин, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
138.	-	Нажать кнопку «↓», нажать кнопку «Enter» на пункте выбора «T1» и «t»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
139.	-	Выбрать температуру «T1» – 72 °С и время «t» – 5м00с, нажать кнопку «Enter»	1 мин, лаборант, м.н.с.	Амплификатор

140.	-	Пропустить пункты изменения температуры и времени «dT», «dt», «R», «dR», нажать кнопку «Enter»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
141.	-	Нажать кнопку «↓» и выставить «Ткр» – 105 °С и «Тсохр» – 10 °С	1 мин, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
142.	-	Завершить программу зажав кнопку «Menu» – необходимо зажать кнопку «Menu»	15 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
143.	-	Во всплывшем окне с вопросом «Сохранить программу?», выбрать пункт «Да», нажать кнопку «Enter»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
Приготовление рабочих растворов для проведения ПЦР				
144.	-	Приготовить 18 mM раствор $MgCl_2$, для чего в пробирку 0,5 мл налить 72 мкл 25 mM раствора $MgCl_2$ и 28 мкл деионизованной воды, перемешать пробирку на вортексе, кратко центрифугировать пробирку на лабораторной центрифуге	2 мин, лаборант, м.н.с.	Пробирка 0,5 мл, Пипетка-дозатор (10-100 мкл), вортекс, лабораторная центрифуга
145.	-	Приготовить раствор dNTP (10 mM) для чего в пробирку 0,5 мл налить по 10 мкл 100 mM растворов dATP, dTTP, dCTP, dGTP, добавить 360 мкл деионизованной воды, перемешать пробирку на вортексе, кратко	2 мин, лаборант, м.н.с.	Пробирка 0,5 мл, пипетка-дозатор (20-200 мкл), пипетка-дозатор (0,5-10 мкл), вортекс, лабораторная центрифуга

		центрифугировать пробирку на лабораторной центрифуге		
146.	-	Рассчитать необходимое количество деионизованной автоклавированной воды для разведения праймеров, учитывая показатели, предоставленные производителем. Расчёт производится по следующим формулам: $A = E_{cd}$ где: A – оптическая плотность; E – коэффициент молярной экстинкции; c – молярная концентрация; d – оптический путь (см). $c \approx (A/E_{общ}) \times 10^3,$ c – молярная концентрация праймера (1 мкМ); A – оптическая плотность; E_{общ} – коэффициент молярной экстинкции всех нуклеотидов в праймере. $E_{общ} = E_{АТР} \times N_A + E_{ГТР} \times N_G + E_{СТР} \times N_C + E_{ТТР} \times N_T,$ где: E_i – коэффициент молярной экстинкции каждого из NTP; N_i – число каждого из NTP в праймере. $V(\mu l) = c \times 10,$ где:	10 мин, лаборант, м.н.с.	Компьютер

		с – молярная концентрация праймера (мкМ); V – объём деионизованной воды, необходимый для получения 100 мкМ раствора праймера, мкл.		
147.	-	Добавить к праймерам необходимое количество деионизованной воды для получения концентрированных растворов 100 мкМ, перемешать пробирки с праймерами на вортексе, кратко центрифугировать пробирки на лабораторной центрифуге, хранить при –20 °С	2 мин, лаборант, м.н.с.	Пипетка-дозатор (20–200 мкл), вортекс, лабораторная центрифуга, морозильная камера
148.	-	Развести концентрированные растворы праймеров F и R, и получить 10 мкМ растворы, для чего в две 0,2 мл пробирки налить по 9 мкл деионизованной воды, после чего в одну из них добавить 1 мкл 100 мкМ раствора праймера F, а в другую 1 мкл 100 мкМ раствора праймера R, перемешать пробирки с праймерами на вортексе, кратко центрифугировать пробирки на лабораторной центрифуге, хранить при –20 °С	2 мин, лаборант, м.н.с.	Пробирка 0,2 мл 2 шт, пипетка дозатор (0,5–10 мкл), вортекс, лабораторная центрифуга, морозильная камера

149.	-	В случае необходимости в пробирке 0,5 мл развести часть выделенной ДНК для получения раствора, содержащего 5 нг/мкл, перемешать пробирку на вортексе, кратко центрифугировать пробирку на лабораторной центрифуге, хранить при –20 °С	2 мин, лаборант, м.н.с.	Пробирка 0,5 мл, пипетка дозатор (10–100 мкл), пипетка дозатор (0,5–10 мкл) вортекс, лабораторная центрифуга, морозильная камера
Проведение ПЦР				
150.	-	Все реактивы бидистиллированную воду (H ₂ O), буфер для проведения ПЦР, раствор MgCl ₂ (18 mM), раствор dNTP (10 mM), праймер F (10 мкМ), праймер R (10 мкМ), раствор ДНК (50 нг) перемешать на вортексе, кратко центрифугировать на лабораторной центрифуге, поместить в лоток со льдом	3 мин, лаборант, м.н.с.	Ёмкость для льда и жидкого азота, вортекс, лабораторная центрифуга
151.	-	В пробирку 0,2 мл добавить 6,8 (1,8) мкл деионизованной воды (H ₂ O), 2 мкл стандартного буфера для проведения ПЦР, 2 мкл раствора MgCl ₂ (18 mM), 2 мкл раствора dNTP (10 mM), 1 мкл праймера F (10 мкМ), 1 мкл праймера R (10 мкМ), 0,2 мкл Taq ДНК-полимеразы (5000 е.а./мл), 50 нг ДНК (10-5 мкл раствора	5 мин, лаборант, м.н.с.	Пробирка 0,2 мл, пипетка дозатор (0,5–10 мкл), вортекс, лабораторная центрифуга

		ДНК с концентрацией 2–5 нг/мкл соответственно), перемешать на вортексе, кратко центрифугировать на лабораторной центрифуге		
152.	-	Открыть крышку амплификатора	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
153.	-	Поставить пробирку в ячейку амплификатора	10 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
154.	-	Закрыть крышку амплификаторов	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
155.	-	Включить амплификатор	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
156.	-	Если необходима смена программы, нажать кнопку «↓» и выбрать пункт «Поиск», нажать кнопку «Enter»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
157.	-	Используя кнопки «↑», «↓», «→», «←» выбрать программу «SSR60», нажать кнопку «Enter»	30 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
158.	-	Выбрать пункт «Старт», нажать кнопку «Enter»	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
159.	-	Проверить корректность выбранной программы, нажать кнопку «Enter», запустив программу, ждать	3 ч 40 мин, лаборант, м.н.с.	Амплификатор

		завершения работы программы		
160.	-	После завершения работы необходимо нажать кнопку «Enter» и выключить прибор	5 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор
161.	-	Пробирку с продуктами реакции вынимают из амплификатора и сразу же используют для проведения гель-электрофореза, при необходимости хранят при 4 °С до проведения гель-электрофореза	30 с, лаборант, м.н.с.	Амплификатор, холодильник
Проведение гель-электрофореза				
162.	-	Налить 3 л буфера ТАЕ 1х в камеру для горизонтального электрофореза	2 мин, лаборант, м.н.с.	Камера для горизонтального электрофореза
163.	-	Закрепить подложку для геля на заливочном столике	1 мин, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, заливочный столик
164.	-	Соединить держатель для гребёнки с гребёнкой	1 мин, лаборант, м.н.с.	Держатель для гребёнки, гребёнка
165.	-	Установить держатель для гребёнки с гребёнкой на подложке для геля	30 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, заливочный столик, держатель для гребёнки, гребёнка
166.	-	Расплавить 2%-й раствор агарозы в микроволновой печи. Агарозный гель должен находиться в 250 мл конической колбе из термостойкого стекла	2 мин, лаборант, м.н.с.	Микроволновая печь

167.	-	После охлаждения 2% раствора агарозы приблизительно до 50 °С добавить в него бромистый этидий (20 мг/мл) и перемешать	5 мин, лаборант, м.н.с.	Пипетка Пастера 1,5 мл
168.	-	Перелить жидкий 2% раствор агарозы с бромистым этидием в подложку для геля, если при переливании образовались пузыри, убрать их при помощи препаровальной иглы. Ждать пока гель затвердеет.	20 мин, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, заливочный столик, держатель для гребёнки, гребёнка, препаровальная игла
169.	-	Снять с заливочного столика подложку с затвердевшим гелем и держателем для гребёнки с гребёнкой и переместить их в камеру для горизонтального электрофореза	30 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, заливочный столик, держатель для гребёнки, гребёнка, камера для горизонтального электрофореза
170.	-	В пробирку 0,2 мл, в которой находятся продукты ПЦР, добавляют 1 мкл «красителя»	1 мин, лаборант, м.н.с.	Пробирка 0,2, пипетка-дозатор (0,5-10 мкл)
171.	-	Пробирку, содержащую ДНК с «красителем», перемешивают на вортексе	30 с, лаборант, м.н.с.	Вортекс
172.	-	Пробирку, содержащую ДНК с красителем, кратко центрифугируют на лабораторной центрифуге в течение 10 с при 2000g	15 с, лаборант, м.н.с.	Лабораторная центрифуга

173.	-	Убрать держатель для гребёнки с гребёнкой	30 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, держатель для гребёнки, гребёнка, камера для горизонтального электрофореза
174.	-	Нанести в первую лунку геля 2 мкл ДНК-маркёра 100bp+ готового к нанесению	30 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, пипетка-дозатор (0,5-10 мкл)
175.	-	Нанести во вторую лунку геля 20 мкл смеси продуктов ПЦР с «красителем»	30 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, пипетка-дозатор (2-20 мкл)
176.	-	Закрыть крышку камеры для горизонтального электрофореза	5 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза
177.	-	Подключить электроды камеры для проведения электрофореза к источнику питания	30 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, источник питания
178.	-	Включить источник питания	5 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, источник питания

179.	-	Нажать Клавишу постоянного Параметра на индикатор напряжения (V)	5 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, источник питания
180.	-	Ввести значение напряжения 90 V при помощи Клавиши прокрутки (обозначена +/-)	30 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, источник питания
181.	-	Запустить работу, нажав Клавишу Запуск работы, ждать пока фрагмент ДНК пройдёт 6,7 см.	30 мин, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, источник питания
182.	-	Нажать клавишу Остановки. Выключить источник питания.	5 с, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза, источник питания
183.	-	Снять крышку камеры для горизонтального электрофореза, вынуть подложку для геля с гелем, закрыть крышку камеры для горизонтального электрофореза	1 мин, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, камера для горизонтального электрофореза
184.	-	Включить систему Molecular Imager Gel Doc XR+ System (BioRad) для гель-документации	5 с, лаборант, м.н.с.	Система гель-документации
185.	-	Открыть лоток прибора и переложить на него гель из подложки, закрыть лоток.	1 мин, лаборант, м.н.с.	Подложка для геля, система гель-документации

186.	-	Включить программу «Quantity One»	5 с, лаборант, м.н.с.	Система геле- документации, компьютер
187.	-	В появившемся окне нажать кнопку «Basic»	5 с, лаборант, м.н.с.	Система геле- документации, компьютер
188.	-	В появившемся окне выбрать пункт «Select Scanner»	5 с, лаборант, м.н.с.	Система геле- документации, компьютер
189.	-	В появившемся окне выбрать пункт «Gel Doc XR...»	5 с, лаборант, м.н.с.	Система геле- документации, компьютер
190.	-	В появившемся окне в разделе «Step 2» нажать кнопку «Epi White» для включения дневного освещения	5 с, лаборант, м.н.с.	Система геле- документации, компьютер
191.	-	Переместить гель в лотке на необходимое место для фотографирования, используя изображение на мониторе	1 мин, лаборант, м.н.с.	Система геле- документации, компьютер
192.	-	В разделе «Step1» настроить фокус с использованием кнопок «Near» и «Far» и увеличение с использованием кнопок «Tale» и «Wide»	1 мин, лаборант, м.н.с.	Система геле- документации, компьютер
193.	-	В разделе «Step 2» нажать кнопку «Trans UV» для включения ультрафиолетового освещения	5 с, лаборант, м.н.с.	Система геле- документации, компьютер

194.	-	Нажать на кнопку «Save»	5 с, лаборант, м.н.с.	Система геле- документации, компьютер
195.	-	В появившемся окне выбрать папку для сохранения и впечатать имя файла (расширение по умолчанию *.1sc)	1 мин, лаборант, м.н.с.	Система геле- документации, компьютер
196.	-	В меню File выбрать пункт Export to JPEG Image	5 с, лаборант, м.н.с.	Система геле- документации, компьютер
197.	-	В появившемся окне выбрать папку для сохранения и впечатать имя файла (расширение по умолчанию *.jpg)	1 мин, лаборант, м.н.с.	Система геле- документации, компьютер
198.	-	Закрыть программу «Quantity One»	5 с, лаборант, м.н.с.	Система геле- документации, компьютер
199.	-	Выключить систему Molecular Imager Gel Doc XR+ System (BioRad) для геле-документации	5 с, лаборант, м.н.с.	Система геле- документации, компьютер
200.	-	Гель разрезать и сложить в колбу, поместить в холодильник и хранить при 4 °C	1 мин, лаборант, м.н.с.	Холодильная камера

Длительность работ и квалификация задействованных сотрудников:

Суммарная длительность СОП для анализа одного образца: 8 ч 35 мин 30 с – 8 ч 50 мин 30 с, в том числе:

1. Гомогенизация тканей растения – 12 мин;
2. Выделение ДНК набором Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250) – 57 мин 30 с – 59 мин 30 с;

3. Проверка концентрации ДНК на спектрофотометре для микрообъёмов – 13 мин 20 с;
4. Приготовление рабочих растворов для электрофореза в агарозном геле – 29 мин;
5. Проведение гель-электрофореза – 1 час 14 мин 30 с;
6. Создание программы ПЦР на амплификаторе (необходимо только один раз) – 13 мин;
7. Приготовление рабочих растворов для проведения ПЦР – 20 мин;
8. Проведение ПЦР – 3 ч 49 мин 40 с;
9. Проведение гель-электрофореза – 1 ч 14 мин 30 с;
10. Перемещение из комнаты в комнату – 5 мин.

Квалификация сотрудника:

На всех этапах 1–200: лаборант, м.н.с.

Таблица Ф.2 – Расходные материалы и личные средства защиты

Наименование	Дополнительная информация (марка, производитель или ссылка на каталожный номер и сайт производителя)	Единица измерения	Израсходовано единиц (для многократных ставится дробное число: 1/п, где п – сколько раз можно использовать)
Халат лабораторный	Kimberly-Clark Kimtech Science A7	шт.	0,01x1
Перчатки нитриловые	Kimberly-Clark G10, длина 24 см	пара	1,00
Термос	THERMOCAFE BY THERMOS EVERYNIGHT- 50 (0,5 ЛИТРА)	шт.	0,01x1
Ёмкость для льда и жидкого азота	BioCision, 2,5 л, круглая с крышкой, TruCool Round	шт.	0,01x2
Штатив	Для пробирок 1,5-2 мл на 80 мест, полистирол Axygen	шт.	0,01x4
Шпатель	Bochem лопатка 45x9 мм, 150 мм	шт.	0,01x8
Пинцет	Bochem тупоконечный, без зубца, насежки наверху, 180/10, 105 мм	шт.	0,01x1
Скальпель	Bochem 150 мм	шт.	0,01x2
Игла для диссекции	Bochem рукоятка – пластик; игла – нержавеющая сталь, прямая, длина 140 мм	шт.	0,01x1

Ступка ручная, фарфор, стерильная	№3 d 90x45 мм	шт.	0,01x1
Пестик фарфоровый стерильный	№3 d 43x170 мм	шт.	0,01x1
Пипетка Пастера 1,5 мл ПЭ	Deltalab, ПЭ, нестерильная	шт.	0,01x1
Чашка Петри	Нейтральное стекло d 100 мм, h 20 мм	шт.	0,01x1
Бутыль 100 мл из тёмного стекла	Pyrex (Corning), тёмное стекло, полипропиленовая крышка	шт.	0,01x1
Колба коническая 3000 мл	Стеклоприбор, термостойкое стекло ТС Диаметр 187 мм, высота 310 мм, d горла 50 мм	шт.	0,01x2
Колба коническая 1000 мл	Стеклоприбор, термостойкое стекло ТС Диаметр 131 мм, высота 215 мм, шлиф 29/32	шт.	0,01x2
Колба коническая 250 мл	Стеклоприбор, термостойкое стекло ТС Диаметр 85 мм, высота 135 мм, шлиф 19/26	шт.	0,01x3
Колба коническая 100 мл	Стеклоприбор, термостойкое стекло ТС Диаметр 64 мм, высота 105 мм, шлиф 14/23	шт.	0,01x2
Мерный цилиндр 100 мл	Стеклоприбор, класс 2, цена деления 1,0 мл с носиком и пластиковым основанием	шт.	0,01x7
Мерный цилиндр 250 мл	Стеклоприбор, класс 2, цена деления 2,0 мл с носиком и пластиковым основанием	шт.	0,01x3
Стакан с носиком 100 мл	Высокий, градуированный, d 48x80 мм, термостойкое стекло, В-1-100 ТС	шт.	0,01x7
Стакан с носиком 150 мл	Высокий, градуированный, d 54x95 мм, термостойкое стекло, В-1-150 ТС	шт.	0,01x2
Стакан с носиком 250 мл	Высокий, без градуировки, d 60x120 мм, термостойкое стекло, В-1-250 ТС	шт.	0,01x1
Дозатор (0,5-10 мкл)	Eppendorf Research Plus	шт.	0,01x1

Дозатор (2-20 мкл)	Eppendorf Research Plus	шт.	0,01x1
Дозатор (10-100 мкл)	Eppendorf Research Plus	шт.	0,01x1
Дозатор (20-200 мкл)	Eppendorf Research Plus	шт.	0,01x1
Дозатор (100-1000 мкл)	Eppendorf Research Plus	шт.	0,01x1
Наконечник пластиковый на пипетку - 0,5-10 мкл	Axygen № T-300	шт.	30,00
Наконечник пластиковый на пипетку – 1-200 мкл, стерильный	Axygen № T-200-Y	шт.	10,00
Наконечник пластиковый на пипетку – 100-1000 мкл, стерильный	Axygen № T-1000-B	шт.	11,00
Пробирка пластиковая 1,5 мл, стерильная	Axygen № MCT-150-C	шт.	2,00
Пробирка пластиковая 2 мл, стерильная	Axygen № MCT-200-C	шт.	3,00
Пробирка пластиковая 0,5 мл, стерильная	Eppendorf #0030124537	шт.	3,00
Пробирка пластиковая 0,2 мл, стерильная	Eppendorf #0030124332	шт.	5,00
Фильтровальная бумага	Ф, 520 x 600 мм, листы	шт.	2
Набор для выделения ДНК Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (250)		шт.	1/250
ДНК-маркёр 100bp+ готовый к нанесению	BIORON GmbH	мкл	4
Тaq ДНК-полимераза со стандартным буфером (не содержит Mg)	New England Biolabs	мкл	0,2
Набор dNTP 100 mM	BIORON GmbH	мкл	по 10
Трис	Amresco	г	242
ЭДТА-Na ₂ x2H ₂ O	Amresco	г	18,6
NaOH	Panreac	г	18
Ледяная уксусная кислота	Panreac	мл	57
Бромистый этидий	BioChemica	г	2
Агароза	Lonza	г	3,75
Глицерин	Panreac	мл	50

Бромфеноловый синий, натриевая соль	Amresco	г	0,25
Ксиленцианол FF	Amresco	г	0,25
Жидкий азот		л	3
Лёд		кг	1
Деионизованная автоклавируемая вода (качества MQ)		мкл	1020

Таблица Ф.3 – Компьютерные программы

Наименование (версия)	Web-ссылка на платную версию	Бесплатный аналог (если есть), ссылка
IrfanView 64	-----	http://www.irfanview.com/
Microsoft excel	Microsoft.com	OpenOffice Excel

Оборудование:

Наименование, модель
Весы лабораторные (Massa-K) ВК-300
Водяная баня GFL 1002
Вортекс BIOSAN V1-plus персональный
Центрифуга Eppendorf Centrifuge 5424R
Центрифуга лабораторная ПЭ-6906 (Экресс)
Спектрофотометр для микрообъемов Thermo Scientific NanoDrop 2000
Магнитная мешалка IKA RH basic 2 (IKA-Werke GmbH)
Камера для горизонтального электрофореза Bio-Rad Sub-Cell Model 192
Источник питания Bio-Rad Power Pac Basic (напряжение: 100-300 В; ток: 4-400 мА; мощность: 75 Ватт)
Микроволновая печь LG MS2021U
Система гель-документирования Molecular Imager Gel Doc XR+ System (BioRad)
Амплификатор BIS Thermocycler M 111-02
Компьютер Asus K751SJ-TY020D 17,3” (Китай)
Морозильник ATLANT M7184-000
Холодильник ATLANT XM4011-022