**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 *in vitro*. |
| 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 *in vitro*, ВНИИКХ, 1989 г. |

Таблица 1 – СОП «Хранение и браковка пробирочных растений» (из расчёта 280 сортообразцов)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № | Описание операции | Время выполнения | Используемые материалы и приборы |
| 1 | Проведение ИФА для определения скрытой зараженности вирусами Х, Y, M, S, ВСЛК, по ГОСТ Р 53136 и бактериям (возбудителям черной ножки и кольцевой гнили).  -анализ проводят в соответствии с инструкциями, прилагаемыми к диагностическим наборам ИФА.  -оформление протокола испытания. | 100 образцов в течение 48 часов. Через каждые 20-40 в зависимости от сорта дней в целях восстановления образцов коллекции и микроклональном размножением как исходного материала для размножения сорта. | Фотометр вертикального сканирования, термостат суховоздушный для планшетов поддерживающий температуру (37 ºС), весы аналитические с точностью до (+-0,0005 г), ПИПЕТКА ДОЗАТОР (100-1000мкл.), пипетки многоканальные на объем 0,05-0,25 см3, шейкер для планшетов, посуда мерная вместимостью 1, 0,5; 0,35; 0,25; 0,1; 0,05; 0,01 дм3. Микропробирки конические с крышкой 1,5 см3. Центрифуга настольная для пробирок на 1,5 см3 и ускорением 10000g. Вода дистиллированная ГОСТ 6709. Бумага фильтровальная ГОСТ12062. Перчатки резиновые. Диагностические ИФА наборы для определения вирусных (Х, Y, S, М, ВСЛК) и бактериальных возбудителей черной ножки и кольцевой гнили, с порогом чувствительности для вирусов 10-50 нг/см3, возбудителей бактериоза 104-105 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 (микроклональное 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 ºС 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 межджоузлиями, 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 черенкованите повторяется 5-6 раз. |  |  |