

11-12458 2288.

ДУБЛЕТ

48-03139



**СОХРАНЕНИЕ  
ВЕГЕТАТИВНО РАЗМНОЖАЕМЫХ  
КУЛЬТУР В *IN VITRO*  
И КРИО КОЛЛЕКЦИЯХ**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ**

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
ВСЕРОССИЙСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ  
РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ имени Н. И. Вавилова» (ВИР)

---

**СОХРАНЕНИЕ  
ВЕГЕТАТИВНО РАЗМНОЖАЕМЫХ КУЛЬТУР  
В *IN VITRO* И КРИО КОЛЛЕКЦИЯХ**

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

2-е издание  
расширенное и дополненное

Санкт-Петербург  
2017

УДК 633. 1: 635. 64: 631. 52

**Авторы:**

канд. биол. наук **С. Е. Дунаева**, канд. биол. наук **Г. И. Пендинен**,  
канд. биол. наук **О. Ю. Антонова**, канд. биол. наук **Н. А. Швачко**,  
мл. науч. сотр. **Ю. В. Ухатова**, лаборант-исследователь **Л. Е. Шувалова**,  
лаборант-исследователь **Н. Н. Волкова**,  
д-р биол. наук **Т. А. Гавриленко**

Под научной редакцией  
д-ра биол. наук **Т. А. Гавриленко**

**Рецензенты:**

канд. с.-х. наук **Г. И. Филипенко**,  
д-р биол. наук **Е. А. Соколова**

Утверждено Ученым советом  
протокол № 13 от 23 октября 2017 г.

ISBN 978-5-905954-55-9

© Федеральный исследовательский центр  
Всероссийский институт генетических  
ресурсов растений имени Н. И. Вавилова  
(ВИР), 2017

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение .....	5
Список сокращений.....	7
<b>1. УСЛОВИЯ РАБОТЫ С АСЕПТИЧЕСКИМИ КУЛЬТУРАМИ РАСТЕНИЙ.....</b>	<b>8</b>
1.1. Лабораторные помещения для выполнения работ с <i>in vitro</i> и крио коллекциями .....	8
1.2. Лабораторные помещения для проведения тестирования на наличие вирусных и виroidных инфекций .....	9
1.3. Состав питательных сред и их приготовление .....	9
1.4. Подготовка растительного материала, ламинар-бокса и инструментов .....	11
<b>2. ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ <i>IN VITRO</i> СОХРАНЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ВЕГЕТАТИВНО РАЗМНОЖАЕМЫХ КУЛЬТУР .....</b>	<b>13</b>
2.1. Введение в культуру <i>in vitro</i> .....	13
2.2. Микроразмножение и укоренение в культуре <i>in vitro</i> .....	14
2.3. <i>In vitro</i> коллекции в системе <i>ex situ</i> сохранения вегетативно размножаемых растений .....	15
2.4. Протоколы для введения в культуру <i>in vitro</i> , микроразмножения, укоренения и среднесрочного хранения некоторых вегетативно размножаемых культур.....	16
Малина, ежевика .....	16
Адвентивная регенерация малины .....	19
Жимолость .....	20
Смородина .....	22
Земляника.....	23
Картофель .....	26
Луки .....	27
<b>3. МЕТОДЫ КРИОКОНСЕРВАЦИИ ОБРАЗЦОВ ВЕГЕТАТИВНО РАЗМНОЖАЕМЫХ КУЛЬТУР (КАРТОФЕЛЯ И МАЛИНЫ) .....</b>	<b>30</b>
3.1. Дроплет-метод для криоконсервации образцов картофеля .....	30

3.2. Метод капель-витрификации для криоконсервации образцов южноамериканских аборигенных сортов картофеля .....	31
3.3. Метод капель-витрификации для криоконсервации образцов малины и ежевики на основе оптимизированного протокола «DV-biotech» .....	32
3.4. Регламент и стандарты закладки образцов на длительное криохранение .....	33
3.5. Состав сред для криоконсервации.....	35
4. ТЕСТИРОВАНИЕ МИКРОРАСТЕНИЙ НА НАЛИЧИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ, ВИРУСНЫХ И ВИРОИДНЫХ ИНФЕКЦИЙ.....	36
4.1. Тестирование микрорастений на наличие бактериальных инфекций .....	36
4.2. Тестирование на наличие вирусных инфекций методом иммуноферментного анализа .....	39
4.3. Тестирование на наличие вирусных и виroidных инфекций методом ОТ-ПЦР.....	45
5. ОЗДОРОВЛЕНИЕ МИКРОРАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ОТ ВИРУСА PLRV МЕТОДОМ КРИОТЕРАПИИ .....	55
Литература .....	58

## ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1. Оборудование для работ с <i>in vitro</i> и крио коллекциями ...	67
Приложение 1а. Оборудование для проведения ИФА и ОТ-ПЦР .....	67
Приложение 2. Состав питательных сред.....	68
Приложение 3. Праймеры для детекции основных вирусов и виroidов картофеля методом ОТ-ПЦР.....	70
Приложение 4. Форма протоколов для учета данных по жизнеспособности и регенерационной способности эксплантов в экспериментах по криоконсервации .....	71

## РИСУНКИ