



СОХРАНЕНИЕ
ВЕГЕТАТИВНО РАЗМНОЖАЕМЫХ КУЛЬТУР
В *IN-VITRO*- И КРИОКОЛЛЕКЦИЯХ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК

Государственное научное учреждение
Всеросийский научно-исследовательский институт растениеводства
имени Н. И. Вавилова
Российской академии сельскохозяйственных наук

СОХРАНЕНИЕ
ВЕГЕТАТИВНО РАЗМНОЖАЕМЫХ КУЛЬТУР
В *IN VITRO*- И КРИОКОЛЛЕКЦИЯХ

(*Методические указания*)

Санкт-Петербург
2011

УДК 633. 1: 635. 64: 631. 52

Составители

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

Под редакцией

д-ра биол. наук **Т. А. Гавриленко**

Рецензенты

канд. биол. наук **Е. И. Шарова**, д-р биол. наук **Л. Г. Тырышкин**

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Bioversity International / VavilovGenebank / LoA (грант № 07/053)

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	5
Список сокращений.....	6
1. УСЛОВИЯ РАБОТЫ С АСЕПТИЧЕСКИМИ КУЛЬТУРАМИ РАСТЕНИЙ	
1.1. Лабораторные помещения для выполнения работ по хранению <i>in vitro</i>	7
1.2. Лабораторные помещения для проведения тестирования на наличие вирусных и вирионных инфекций.....	8
1.3. Состав питательных сред и их приготовление.....	8
1.4. Подготовка растительного материала, ламинар-бокса и инструментов.....	10
2. ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ <i>IN VITRO</i> СОХРАНЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ВЕГЕТАТИВНО РАЗМНОЖАЕМЫХ КУЛЬТУР	
2.1. Введение в культуру <i>in vitro</i>	12
2.2. Микроразмножение и укоренение в культуре <i>in vitro</i>	12
2.3. <i>In vitro</i> коллекции в системе <i>ex situ</i> сохранения вегетативно размножаемых растений.....	13
2.4. Протоколы для введения в культуру <i>in vitro</i> , микроразмножения и среднесрочного хранения некоторых ягодных, плодовых, луковых культур и картофеля.....	15
Малина, ежевика.....	15
Жимолость.....	19
Смородина.....	21
Земляника.....	22
Рябина.....	24
Картофель.....	25
Луковые.....	27
3. КРИОКОНСЕРВАЦИЯ	
3.1. Криоконсервация почек микрорастений картофеля методом Дроплет.....	30
3.2. Криоконсервация почек микрорастений картофеля методом Дроплет-витрификации.....	31

4. ТЕСТИРОВАНИЕ МИКРОРАСТЕНИЙ НА НАЛИЧИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ, ВИРУСНЫХ И ВИРОИДНЫХ ИНФЕКЦИЙ	
4.1. Тестирование микрорастений на наличие бактериальных инфекций.....	33
4.2. Тестирование на наличие вирусных инфекций методом иммуноферментного анализа.....	36
4.3. Тестирование на наличие вирусных и вироидных инфекций методом ОТ-ПЦР	43
Литература.....	55

ПРИЛОЖЕНИЯ

1. Оборудование для работ с <i>in vitro</i> коллекциями.....	60
2. Состав питательных сред.....	61
3. Праймеры для детекции основных вирусов и вироидов картофеля методом ОТ-ПЦР.....	63
Рисунки.....	64