

Федеральное агентство научных организаций
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ВИНОГРАДАРСТВА И ВИНОДЕЛИЯ
«МАГАРАЧ» РАН

УТВЕРЖДАЮ
Врио директора ФГБУН
«ВНИИВиВ «Магарач» РАН,
д р с.-х. наук, профессор
М.Н. Борисенко
г.



ПРОТОКОЛ ВЕРИФИКАЦИИ

Стандартной операционной процедуры
«Оздоровление растений винограда от патогенной инфекции с использованием
метода *in vitro* »

Ялта 2017

1. Объект верификации: Стандартная операционная процедура «Оздоровление растений винограда от патогенной инфекции с использованием метода *in vitro*», выполненная на растительном материале образца Ампелографической коллекции Магарач (сорт Павло изюм).

2. Цель верификации: установить методическую правильность оздоровления растительного материала образцов винограда. Конкретная цель – выполнить оздоровление растений сорта винограда Павло изюм от латентной формы вирусной инфекции: скручивание листьев винограда-1 (*GLRaV-1*) и вириуса ямчатости древесины Кобера (*GVA*) посредством культуры меристем. Культура меристем является наиболее эффективным способом, применяющимся для оздоровления растений от вирусов. В основу его лежит специфичность строения точки роста побега. Дистальная часть ее представлена апикальной меристемой, а дифференцирующие клетки, образующие проводящую систему расположены ниже. Такое строение исключает проникновение в меристематические клетки вириуса за счет быстрого транспортирования по проводящей системе.

3. Место проведения верификации: Материал получен из Ампелографической коллекции «Магарач», которая находится в Западном предгорно-приморском естественном виноградарском регионе Крыма (с. Вилино, Бахчисарайский р-н, Р. Крым), работа проводилась в отделе питомниководства и клонального микроразмножения винограда «ВНИИВиВ «Магарач» РАН.

4. Исполнитель: отдел питомниководства и клонального микроразмножения винограда ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН

5. Дата проведения верификации: август-ноябрь 2017 года.

Последовательность получения растений, свободных от вирусов через культуру апикальных меристем включает:

- 1 – выявление тестированием пораженного вириусом растения;
- 2 – сбор первичного материала: верхние части зеленых побегов;
- 3 – подготовка и стерилизация первичных эксплантов;
- 4 – вычленение апикальной меристемы, получение асептической культуры;
- 5 – культивирование апикальной меристемы, пролиферация побегов;
- 6 – субкультивирование развившихся побегов;
- 7 – повторное тестирование растительного материала на присутствие вирусов;
- 8 – укоренение свободных от вирусов побегов, развитие безвириусных растений.

7. Результаты проведенной верификации: протестирована методика оздоровления растений винограда с использованием культуры тканей *in vitro*, установлен поэтапный процесс ее выполнения и получены оздоровленные от вириусной инфекции растения винограда сорта Павло изюм, поддерживаемые в условиях культуры тканей *in vitro*. Результаты верификации СОП «Оздоровление растений винограда от патогенной инфекции с использованием метода *in vitro* » приведены в таблице.

Табл. Результаты верификации СОП «Оздоровление растений винограда от патогенной инфекции с использованием метода *in vitro*.

Повтор- ность	Кол-во первич- ных эксплан- -тов, шт.	% инфи- циро- вания	Кол-во асептиче- ских мерис- тем, шт.	Размер мерис- темы, мм	% прижи- ваемо- сти меристем	Частота множест- венного побего- образова- ния, %	Частота укорене- ния побегов, %	% оздров- ленных растений
1.	34	32,4	23	0,5	47,8	90,9	89,9	21,7
2.	45	40,0	27	0,8	59,2	93,8	92,0	11,1
По повтор- ностям	79	36,7	50	0,5-0,8	54,0	92,6	91,3	16,0

В процессе верификации СОП проведено 7 пассажей, период операций занял 112 дней культивирования. В результате проведенной процедуры оздоровления растительного материала сорта винограда Павло изюм получен безвирусный материал данного сорта. Восемь оздоровленных растений поддерживаются в условиях *in vitro*, в дальнейшем растения будут размножены, адаптированы к условиям *in vivo* и высажены в полевые условия.

7. Выводы: Проведение оздоровления растений сорта Павло изюм посредством СОП «Оздоровление растений винограда от патогенной инфекции с использованием метода *in vitro*» позволило получить безвирусный материал данного сорта.

Нач. отдела питомниководства
и клонального микроразмножения
винограда, , д-р с.-х. наук,
ст. науч. сотр.

Б.П. Клименко

Исполнители:

Ведущ. науч. сотр.
отдела
питомниководства и
клонального
микроразмножения
винограда,
канд. б. н., ст. науч.
сотр.

И.А. Павлова