

ПРИЛОЖЕНИЕ 7.

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
БОТАНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМ. В.Л. КОМАРОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**



УТВЕРЖДАЮ
Директор БИН РАН,

Д.В. Гельтман

"29" августа 2017 г.

**СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПО СОХРАНЕНИЮ КУЛЬТУР
БАЗИДИОМИЦЕТОВ ПОД ДИСТИЛЛИРОВАННОЙ ВОДОЙ**

(Разработано Н.В. Псурцевой)

Санкт-Петербург 2017

7. Сохранение культур базидиомицетов коллекции LE-BIN под дистиллированной водой состоит из ряда последовательных процедур и учитывает требования следующих стандартных операционных процедур:

— Стандартная операционная процедура по введению (депонированию) штаммов в фонд коллекции культур базидиомицетов БИН РАН (Приложение 1);

— Стандартная операционная процедура по приготовлению питательных сред и стерильной посуды (Приложение 2);

— Стандартная операционная процедура по поддержанию фонда коллекции культур базидиомицетов БИН РАН (Приложение 3);

— Стандартная операционная процедура по пересеву культур базидиомицетов коллекции БИН РАН (Приложение 4);

— Стандартная операционная процедура по контролю жизнеспособности культур базидиомицетов коллекции БИН РАН (Приложение 5);

— Стандартная операционная процедура по контролю чистоты (аутентичности) культур базидиомицетов коллекции БИН РАН (Приложение 6);

7.1. Хранение штаммов под дистиллированной водой является одним из трех обязательных методов сохранения культур коллекционного фонда LE-BIN.

7.2. Для применения этого метода хранения нужны прямостоячие пластиковые стерильные криопробирки (микропробирки) на 1.8-2.0 мл с юбкой, наружной резьбой и герметично завинчивающимися крышками; стерильные пластиковые Пастеровские пипетки (или шприцы); дистиллированная вода, предварительно простерилизованная в стеклянной колбе с ватной пробкой или во флаконе с винтовой пластиковой крышкой.

7.3. Культуру гриба предварительно выращивают в чашке Петри и проверяют на аутентичность (Приложения 4 и 6).

7.4. Работу по закладке на хранение под дистиллированной водой проводят в ламинарном шкафу в стерильных условиях.

7.5. С соблюдением стерильности воду разливают по микропробиркам стерильной Пастеровской пипеткой или стерильным шприцем, заполняя пробирку примерно на 2/3 объема.

7.6. Дырокол диаметром 6-7 мм тщательно обжигают в пламени спиртовке и остужают в спирте. Обжигают спирт над спиртовкой и охлаждают инструмент в агаре у края чашки Петри. На поверхности мицелия дыроколом делают 5 высечек на всю глубину агара. Полученные диски с мицелием и агаром по одному тонким скальпелем переносят в микропробирку, быстро проводят горлышко пробирки над пламенем и плотно завинчивают крышку.

7.7. Хранение осуществляют в холодильнике при 4°C или при комнатной температуре, в зависимости от географического происхождения штамма или индивидуальных предпочтений культур некоторых видов (Приложение 3).

7.8. Пересев культур, хранящихся под дистиллированной водой осуществляют согласно соответствующему СОПу (Приложение 4).

Приготовление и хранение коллекционных культур описываемым методом осуществляется с использованием следующего лабораторного оборудования: ламинарные шкафы ВЛ-12, паровой стерилизатор (автоклав) ГК-100, термостаты ТС-1/80 и хладотермостаты ТСО-1/80, микроскопическая техника (световой микроскоп AxioScore A1, Carl Zeiss, стереомикроскопы МБС-10 и МС-2), холодильники; расходные материалы:

комплекты инструментов для работы в ламинаре, наборы микропипеток, стерильные пластиковые чашки Петри, стерильные микропробирки и пластиковые пастеровские пипетки, реактивы для приготовления сред, спирт и т.д.

Зав. лабораторией биохимии грибов БИН РАН,
Куратор Коллекции LE-BIN



Н.В. Псурцева