

Приложение 3. Протокол замораживания листьев переданных в ВИР образцов сортов для последующего выделения ДНК.

к статье – Гавриленко Т.А., Дунаева С.Е., Тихонова О.А., Чухина И.Г. «Новые подходы к регистрации и сохранению отечественных сортов ягодных культур в генбанке ВИР на примере малины обыкновенной и смородины черной»

DOI: 10.30901/2658-6266-2022-4-05

Supplement 3. Freezing of leaves of transferred to VIR cultivar samples for subsequent DNA extraction.

To the paper of Tatjana A. Gavrilenko, Svetlana E. Dunaeva, Olga A. Tikhonova, Irena G. Chukhina. «New approaches to registration and conservation of domestic cultivars of berry crops in the VIR Genebank on the example of red raspberry and black currant»

С переданной селекционерами части побега (3.1.1 – верхняя треть однолетнего побега) при помощи стерильного пинцета отделяют один-два верхушечных листа для последующего **выделения ДНК**. Для этой работы используют молодые листья, поскольку они содержат меньшее количество вторичных метаболитов. Фиксацию листьев проводят в фальконовских пробирках объемом 50 мл. На пробирки перманентным маркером наносят название сорта и дату фиксации, внутрь вкладывают дублирующую этикетку на плотной бумаге с той же информацией. Листья (4 – 5 граммов) закладывают в подписанные пробирки, после чего пробирки закрывают закручивающимися крышками (не совсем плотно) и погружают в пенопластовый контейнер или термос с жидким азотом. Пробирки с замороженным растительным материалом пинцетом переносят из контейнера в небольшие картонные коробки, предварительно охлажденные жидким азотом, коробки помещают в морозильную камеру с температурой -80°C. Впоследствии этот материал будет использован для выделения ДНК и последующего генотипирования. Информацию об образце, дате фиксации растительного материала и номере препарата ДНК заносят в лабораторный журнал.

При наличии небольшого количества растительного материала фиксацию листьев можно проводить в пробирках типа Эппендорф объемом 2 мл.