

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



УТВЕРЖДАЮ
Директор БИН РАН,

Д.В. Гельтман
Д.В. Гельтман

"29" августа 2017 г.

**Стандартная операционная процедура по контролю жизнеспособности
культур базидиомицетов коллекции БИН РАН**

(Разработано Н.В. Псурцевой)

5. Контроль жизнеспособности культур базидиомицетов коллекции LE-VIN 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 чистоты (аутентичности) культур базидиомицетов коллекции БИН РАН (Приложение 6);

— Стандартная операционная процедура по сохранению культур базидиомицетов под дистиллированной водой (Приложение 7);

— Стандартная операционная процедура по подготовке и проведению криоконсервации культур базидиомицетов коллекции БИН РАН (Приложение 8);

— Стандартная операционная процедура по выделению чистых культур базидиомицетов из природных экосистем (Приложение 9).

5.1. Контроль жизнеспособности культур после хранения методом суб-культуры при 4-6 °С.

5.1.1. Из коллекционной пробирки, находящейся на хранении методом суб-культуры при температуре 4-6 °С производится инокуляция кусочка мицелия на чашки Петри с сусло-агаром.

5.1.2. После посева чашки Петри инкубируют в термостате при 25 °С крышками вниз в течение 5-10 суток проводя регулярный контроль чашек по ростовым показателям и на наличие контаминации.

5.1.3. Наличие мицелиального роста свидетельствует о жизнеспособности штамма, который проверяют на аутентичность согласно соответствующему СОПу (Приложение 6).

5.1.4. Выросшую в чашке Петри колонию пересевают на 2 биологические пробирки со свежим сусло-агаром и возвращают в коллекцию на хранение методом суб-культуры при 4-6 °С.

5.2. Контроль жизнеспособности культур, находящихся на хранении под дистиллированной водой.

5.2.1. Поиск местоположения нужной культуры и извлечение мицелиальных дисков из пузырька на чашку Петри проводят согласно соответствующему СОП (Приложение 4).

5.2.2. Инокулированную чашку инкубируют в термостате при 25 °С в течение нескольких суток, контролируя рост и присутствие посторонней микрофлоры.

5.2.3. Наличие мицелиального роста на чашке свидетельствует о жизнеспособности штамма, который проверяют на аутентичность согласно соответствующему СОПу (Приложение 6).

5.2.4. Пузырек (если его содержимое не было полностью израсходовано) возвращают в контейнер на исходное место.

5.2.5. Жизнеспособную культуру отсевают дисками на новый пузырек согласно соответствующему СОПу (Приложение 7) и возвращают в коллекцию на новое место, либо на исходное, если оно свободно.

5.2.6. Чашку с растущим мицелием при необходимости используют в работе.

5.3. Контроль жизнеспособности культур, находящихся на хранении при температуре -80°C .

5.3.1. Поиск нужных штаммов для контроля жизнеспособности при криоконсервации осуществляется по журналу или базе данных Коллекции LE-BIN.

5.3.2. Последовательность операций по размораживанию и пересеву культур при их подготовке к проверке жизнеспособности при криоконсервации проводят согласно соответствующему СОПу (Приложение 4).

5.3.3. После инокуляции чашки инкубируют в термостате на 25°C крышками вниз в течение 5-10 суток в зависимости от скорости роста штамма.

5.3.4. Запущение и последующий рост инокулятов свидетельствует о жизнеспособности культуры.

5.3.5. После того, как инкубированная чашка зарастет мицелием, совершают контроль аутентичности культуры согласно соответствующему СОПу (Приложение 6).

5.3.6. Проверенную культуру отсевают дисками на новую криопробирку с криопротектором и возвращают на исходное место в низкотемпературный морозильник на -80°C согласно соответствующему СОПу (Приложение 8).

5.3.7. Проверенный на жизнеспособность штамм на чашке Петри при необходимости используют для исследования.

Проверка жизнеспособности коллекционных культур осуществляется с использованием следующего лабораторного оборудования: ламинарные шкафы ВЛ-12, паровой стерилизатор (автоклав) ГК-100, термостаты ТС-1/80 и хладотермостаты ТСО-1/80, низкотемпературный холодильник (New Brunswick Scientific U-410, микроскопическая техника (световой микроскоп AxioScope A1, Carl Zeiss, стереомикроскопы МБС-10 и МС-2), холодильники, центрифуги, вытяжные шкафы и т.д.; и расходных материалов: комплекты инструментов для работы в ламинаре, наборы микропипеток, реактивы для приготовления сред, спирт и т.д..

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

Н.В. Псурцева