

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
ОВОЩЕВОДСТВА»**

Согласовано:

ФАНО России

«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2017 г.

**Технологический паспорт коллекции**

**«Генетическая коллекция растительных  
ресурсов ВНИИССОК»**

**Москва – 2017**

## **1. Общая информация**

**Название коллекции** - «Генетическая коллекция растительных ресурсов ВНИИССОК».

- **Держатель коллекции** - Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр овощеводства» (ФГБНУ ФНЦО).

- **Цели и задачи** – Генетическая коллекция растительных ресурсов ВНИИССОК предназначена для обеспечения исходными формами селекционных программ по созданию новых сортов, проведения комплексных фундаментальных и прикладных исследований по овощным, бахчевым и цветочным культурам в области селекции, физиологии, генетики и биотехнологии, а также сохранения достижений отечественной селекции.

- **Объем коллекции** - всего 14200 образцов овощных, бахчевых и цветочных культур.

Врио директора ФГБНУ «ФНЦО», доктор с.-х. наук Солдатенко  
Алексей Васильевич

Адрес: 143080, Московская область, Одинцовский район, поселок  
ВНИИССОК, ул. Селекционная, д. 14

Телефон: +7 (495) 599-24-42

Тел./факс: +7 (495) 599-22-77

E-mail: [vniissok@mail.ru](mailto:vniissok@mail.ru)

Страница УНУ Коллекции на сайте ФГБНУ ФНЦО:  
<http://www.vniissok.ru/nauchnaya-deyatelnost/geneticheskie-i-bioresursnye-kollekcii>

УНУ «Генетическая коллекция растительных ресурсов ВНИИССОК»  
зарегистрирована на портале УНУ/ЦКП: <http://ckp-rf.ru/usu/508567/>

#### РУКОВОДИТЕЛЬ БИОРЕСУРСНОЙ КОЛЛЕКЦИИ

- Солдатенко Алексей Васильевич
- +7 (495) 599-24-42
- [vniissok@mail.ru](mailto:vniissok@mail.ru)

## **Перечень ключевых СОПов:**

### **СОП для поддержания единиц хранения и контроля качества**

СОП 01: Прием образцов семян овощных, бахчевых и цветочных культур в коллекцию, регистрация, учет и документирование

СОП 02: Порядок выдачи образцов семян овощных, бахчевых и цветочных культур из коллекции

СОП 03: Систематизация, размещение и инвентаризация образцов семян овощных, бахчевых и цветочных культур коллекции

СОП 04: Инструкция по подготовке проб коллекции для изучения: Передвижение коллекционного материала и передача в структурные подразделения ФГБНУ ФНЦО

СОП 05: Правила хранения коллекционных семян овощных, бахчевых и цветочных культур в контролируемых и неконтролируемых условиях

СОП 06: Определение посевных качеств образцов семян овощных, бахчевых и цветочных культур

СОП 07: Определение влажности образцов семян овощных, бахчевых и цветочных культур

- **Инфраструктура Коллекции**
- **Помещение для хранения генофонда овощных, бахчевых и цветочных культур**
- **Лабораторная комната**
- **Опытные и семеноводческие поля 632,08 га, культивационные сооружения состоящие из зимних теплиц, экспериментальной теплицы фирмы «Ришель» площадью 5040 м<sup>2</sup>, 1-й весенней блочной теплицы площадью 5780,8 м<sup>2</sup> и комплекса из 14-ти пленочных теплиц для семеноводства площадью 3360 м<sup>2</sup>.**

**Стандартная операционная процедура (СОП):**  
**СОП 01. Прием образцов семян овощных, бахчевых и цветочных культур в коллекцию, регистрация, учет и документирование**

Цель: Организация качества работы с генофондом коллекции, документирование информации и систематизированное информационное обеспечение единиц хранения.

Оборудование, приборы, сырье и реагенты:

- Стол рабочий
- Фольгированные и бумажные пакеты, полотняные мешки
- Шпатель
- Компьютер Asus, принтер Epson
- Программное обеспечение Microsoft office-2010
- Канцелярские принадлежности

Документирование:

- Журнал-каталог
- журнал учета
- база данных
- характеристика образцов на электронных носителях

В УНУ «Генетическая коллекция растительных ресурсов ВНИИССОК» из подразделений ФГБНУ ФНЦО передаются образцы выделившиеся по хозяйственно-ценным признакам, сорта. По усмотрению селекционера также могут передаваться константные сортообразцы (обладающие различной селекционной ценностью, устойчивые к заболеваниям формы и др.) как новый исходный материал.

Порядок выполнения:

1. Все образцы семян, поступающие в коллекцию, должны быть получены законным образом и с соответствующей документацией.
2. Минимальное количество семян одного образца (единицы хранения), которое принимается в Коллекцию для хранения – не менее 1000 семян, для крупносемянных – 500 семян.
3. Провести предварительный осмотр семян образца на соответствие ботанической разновидности, однородность передаваемого материала, согласно прилагаемой сопроводительной документации (Приложение 1). Семена должны быть зрелыми, выполненными, свободными от посторонних примесей, свободными от вредителей и болезней, последних лет репродукций с высокими исходными показателями лабораторной всхожести.

4. Поступивший образец в тот же день регистрируется ответственным сотрудником за коллекцию в журнале-каталоге коллекции. Ему присваивается каталожный порядковый номер. Каждый образец обозначается индивидуальным идентификационным номером.

5. Внести в каталог коллекции паспортные данные образца (Приложение 1).

6. Подготовить емкость для хранения (фольгированные и бумажные пакеты, полотняные мешки) и этикетку. Наклеить специальную бумажную этикетку, распечатанную на принтере, с порядковым номером единицы хранения, присвоенным образцу, и годом поступления в коллекцию. Вторую этикетку с такой же информацией вкладываем внутрь емкости для хранения.

8. Установить емкость для хранения с образцом в шкаф для постоянного хранения на свое место в помещении хранилища семян в соответствии с порядковым номером образцов коллекции, закрыть дверцы шкафа.

9. Факт передачи образца хранения селекционерам организации фиксируется двухсторонним Актом приема-передачи и дает право для использования образца в селекционной и научной работе. Оформляется Акт приема-передачи в двух экземплярах (Приложение 2).

10. Факт передачи образца хранения фиксируется сотрудником в журнале «Учет входящего и исходящего материала» (Приложение 3).

## ПРИЛОЖЕНИЯ

### Приложение № 1

#### Паспортные данные (образца) сорта, передаваемого в Коллекцию

№ п/п	Название образца	Год урожая	Всхожесть, %	Масса, г.	Происхождение	Краткое описание	Срок закладки

### Приложение № 2

#### Акт приема-передачи

селекционного коллекционного материала для закладки на хранение.

" \_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 2017 г.

Заведующий подразделением \_\_\_\_\_ передал селекционный коллекционный материал на хранение в коллекцию:

№ п/п	Название образца	Год урожая	Всхожесть, %	Масса, г.	Происхождение	Краткое описание	Срок закладки
1.							

Селекционный коллекционный материал "сдал" \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ /

Селекционный коллекционный материал "принял"

ст.н. сотрудник

лаборатории генетики и цитологии \_\_\_\_\_ /Романов В.С./

ведущий агроном элитно-семенной

базы \_\_\_\_\_ /Мирошникова М.П./

### Приложение № 3

#### Форма ведения журнала «Учет входящего и исходящего материала»

№п./п	Дата	Получен или передан генетический материал. Для каких целей.	В каком количестве, шт.	Из какого подразделения, или в какое подразделение, организация. Ф.И.О.

## **СОП 02. Порядок выдачи образцов из коллекции**

Цель: Организация качества работы с коллекцией, упорядочение передачи образцов для научно-исследовательских целей и обеспечение целесообразности и эффективности использования генетических ресурсов овощных, бахчевых и цветочных культур.

Оборудование, приборы, сырье и реагенты:

- Рабочий стол для заполнения документации
- лабораторный стол
- шпатель
- упаковочные материалы: бумажные или фольгированные пакеты
- Компьютер Asus, принтер Epson
- Программное обеспечение Microsoft Office-2010
- канцелярские принадлежности.

Документирование:

- Журнал учета

Коллекция ФГБНУ ФНЦО предназначена для проведения комплексных фундаментальных и прикладных исследований по культурам в области селекции, генетики, биотехнологии и физиологии.

Доступ к коллекции для сотрудников ФГБНУ ФНЦО осуществляется путем оформления заявки, размещенной на интернет-сайте ФГБНУ ФНЦО. Процедура выдачи или отправки семян овощных, бахчевых и цветочных культур проводится ответственным за коллекцию сотрудником по мере поступления заявки согласно Положения об УНУ (2017 г). Подготовка семян образца для передачи производится научным сотрудником или лаборантом УНУ «Генетическая коллекция растительных ресурсов ВНИИССОК».

Порядок выполнения:

Выдача семян коллекционных образцов в структурные подразделения института.

1. Информация о наличии необходимых пользователю образцов в коллекции выдаются сотрудникам института без дополнительных согласований.

2. Семена образцов коллекции для научных исследований и практического использования выдаются из коллекции сотрудникам института в порядке очередности при наличии заявки, оформленной и подписанной руководством института в соответствии с Приложением 1.

3. Процедура передачи образцов семян Пользователям коллекции вместе с информацией базы данных, достаточной для исследования образцов



в структурных подразделениях ФГБНУ ФНЦО, осуществляется в соответствии с Положением об УНУ «Генетическая коллекция растительных ресурсов ВНИИССОК».

4. Оформить факт передачи образцов коллекции в структурные подразделения ФГБНУ ФНЦО для изучения и распечатать двухсторонний Акт-передачи, зафиксировать в журнале «Учет входящего и исходящего материала». Акт-передачи оформить в двух экземплярах.

5. Если сотрудник ФГБНУ ФНЦО обращается к материалу коллекции несколько раз в течение года, каждая выдача должна регистрироваться отдельно.

6. Для упорядочения работы с образцами местной селекции Лицо, использующее образец, полученный из коллекции обязано предоставить руководителю УНУ отчет о результатах его использования. Ссылки в публикациях (в «материалах исследований») на использование образцов коллекции УНУ должны быть обязательными для всех печатных работ, в которых используются научные данные, полученные с использованием коллекции.

7. Отбор семян для передачи по заявке производится сотрудником в помещении коллекции, предварительно установив идентификационный номер образца хранения, на специально отведенном месте (лабораторный стол).

8. В помещении хранилища семян коллекции достать емкость единицы хранения с регистрационным номером, высыпать семена на лабораторный стол и отсчитать необходимое количество семян.

9. Не допускается передавать по заявке последние семена без остатка.

10. Подготовить бумажный пакет (в зависимости от количества передаваемого материала) и нанести на пакет маркировку надежно его идентифицирующую (номер по каталогу, название образца и год репродукции) или вложить этикетку.

11. Проверить внешне качество семян. В образце для передачи не допускается присутствие примесей или поврежденных семян.

12. Образец хранения возвращается в исходную ячейку хранения и хранится в далее стандартных условиях. Семена и Акт-передачи уходит в структурное подразделение ФГБНУ ФНЦО, подавшее заявку на образец под роспись.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение № 1

### ФОРМА ЗАЯВКИ НА ПОЛУЧЕНИЕ СЕМЯН ИЗ КОЛЛЕКЦИИ

Ф.И.О., должность получателя

Наименование научного подразделения

Прошу разрешить выделить семена (кол-во, штук) коллекционных образцов (сортов) для проведения научных исследований (указать цель использования семян) по следующему списку:

№ образца хранения по каталогу	Наименование сорта (сортообразца)

Дата

Подпись

### **СОП 03. Систематизация, размещение и инвентаризация образцов в коллекции**

Цель: Организация мероприятий, обеспечивающих корректную работу с коллекцией, контроль полноты информации об образцах: таксономической, наличия семян и порядка размещения единиц хранения.

Оборудование, приборы, сырье и реагенты:

- Климатическая камера для хранения семян КТВ-16000/4.15
- Стол рабочий для регистрации результатов исследования
- Шкафы для хранения семян образцов (мебель)
- Пластиковые ящики
- Емкости с семенами коллекционных образцов (Фольгированные и бумажные пакеты, полотняные мешки)
- Компьютер Asus, принтер Epson
- Программное обеспечение Microsoft office-2010
- Бумага для этикеток А4 210x297
- Канцелярские принадлежности (клей, ручка)
- Халат белый лабораторный

Документирование:

- блокнот - инвентаризационный реестр
- журнал-каталог
- база данных

УНУ «Генетическая коллекция растительных ресурсов ВНИИССОК» обеспечивает накопление и долгосрочное сохранение семян для фундаментальных и прикладных исследований; создание баз данных и информационную доступность.

Постоянное хранение Генетической коллекции растительных ресурсов ВНИИССОК осуществляется в соответствии с формой хранения семян в специально оборудованном помещении с соблюдением правил пожарной безопасности и санитарных норм.

Систематизация образцов в каталоге коллекции является важнейшим этапом в процессе его подготовки. Выбор структуры каталога зависит от особенности той или иной коллекции, её численности, однотипности единиц хранения, принципа комплектования и т.д. Ведущим для каталогов сельскохозяйственных культур является хронологический принцип поступлений в коллекцию. Образцы, принятые на хранение в коллекцию, хранятся в закрытых шкафах в помещении и в камере для длительного хранения семян.

Когда запасы семян истощаются, образцы надлежит незамедлительно размножить, чтобы удовлетворять спрос со стороны пользователей. Когда всхожесть семян снижается до 50% и менее образцы подлежат пересеву для сохранения жизнеспособности. Инвентаризация коллекционных фондов проводится по мере необходимости, но не реже 1 раза в 3 года.

В ходе инвентаризации проверяется соответствие коллекционных фондов и регистрации образцов в каталоге коллекции, наличие хранящихся зарегистрированных образцов, проводится оптимизация системы хранения, оценивается качество и сохранность образцов.

Инвентаризация проводится в целях: получения достоверных данных о количестве образцов, подлежащих репродуцированию, организации рационального размещения образцов в коллекции, количеству образцов, подлежащих оценке и мониторингу, наличия повреждений или заражений вредителями.

Порядок выполнения.

Размещение единиц хранения.

1. Помещение Генетической коллекции растительных ресурсов ВНИИССОК оборудовано шкафами, климатической камерой для хранения семян КТВ-16000/4.15.

Место для хранения образца определяет ответственный за коллекцию сотрудник.

2. Каждый образец коллекции должен иметь маркировку надежного идентифицирующую (регистрационный номер Каталога), для этого на пакет приклеивается по центру этикетка с номером единицы хранения. Регистрационный номер образца на бумажной этикетке дублируется и вкладывается внутрь пакета с указанием года репродукции.

3. Нумерация единиц хранения коллекции в хронологическом порядке (сквозная последовательная нумерация).

4. Любые изменения в перемещении мест хранения образцов согласуются с Руководителем Коллекции.

5. Для надежного сохранения семян коллекции используется климатическая камера для хранения семян КТВ-16000/4.15 с регулируемым температурным режимом.

6. Семена сортообразцов закладывают в климатическую камеру в фольгированных влагонепроницаемых пакетах. Этикетка с идентификационным номером образца и указанием года репродукции крепится степлером снаружи пакета и закладывается вовнутрь.

7. Списки заложенных на низкотемпературное хранение образцов составляются в двух экземплярах, один экземпляр храниться в папке

делопроизводства Коллекции, второй экземпляр прикрепляется внутри холодильной камеры на дверцы полки, где размещены пакеты с сортообразцами.

Инвентаризация Коллекции.

1. Инвентаризацию проводят совместно сотрудник лаборатории и лаборант.

2. Сотрудник лаборатории заполняет инвентаризационный реестр (блокнот) и делает рабочие записи по форме:

Год инвентаризации	2017
Номер образца с указанием года репродукции	Примечание
010/14	На пересев
011/15	
04890/16	
1-11/16	
2-11/16	
3-11/16	Мало семян
И т.д.	

3. При проведении инвентаризации оценивается сохранность образца, целостность емкости для хранения, сохранность этикетки, год репродукции семян по этикетке, порядок расположения в ящиках. (3 мин)

4. Результаты проведенной инвентаризации используются при формировании календарных планов НИР по коллекции, планировании закладки коллекционного питомника; данная информация используется для планирования деятельности по восстановлению всхожести и составления списков на размножение, чтобы поддерживать необходимые запасы семян.

5. После инвентаризации подлежат списанию образцы, не представляющие ценности для включения в Каталог, утратившие всхожесть и др.

## **СОП 04. Инструкция по подготовке проб коллекции для изучения: Передвижение коллекционного материала и передача в структурные подразделения ФГБНУ ФНЦО**

Цель: обеспечение комплексной оценки образцов овощных, бахчевых и цветочных культур для выделения источников ценных признаков и организация качества научно-исследовательской работы.

Оборудование, приборы, сырье и реагенты:

- Рабочий стол для заполнения документации
- Лабораторный стол
- Бумажные, фольгированные пакеты и полотняные мешки с семенами коллекционных образцов

- Весы лабораторные электронные
- Шпатель
- Упаковочные материалы: бумажные и пластиковые пакеты с защелкой
- Компьютер Asus, принтер Epson
- Программное обеспечение Microsoft office-2010
- Канцелярские принадлежности (степлер, ручка).
- Бумага А4 210x297

Документирование:

- Журнал учета
- Акт-передачи
- Заявка на проведение оценки сортообразцов

Сформированные в научно-исследовательских учреждениях Коллекции значимых в экономическом отношении сельскохозяйственных культур - важное звено в общей системе сохранения генетических ресурсов, а также научный потенциал как для прикладных, так и фундаментальных исследований. В последнее десятилетие государственная политика России направлена на формирование, сохранение, изучение и рациональное использование биоразнообразия растений с целью обеспечения экономической, продовольственной и экологической безопасности. Для решения поставленных задач необходим поиск перспективных форм различного эколого-географического происхождения в качестве родительских форм, источников конкретных признаков в программах гибридизации.

Во ФГБНУ ФНЦО ведется поэтапная комплексная оценка исходного материала в лабораториях центра (генетиками, биотехнологами, фитопатологами, физиологами) и выделение источников ценных признаков для практического использования.

Подготовка проб для анализа - важный этап в работе с генетическими ресурсами. Подготовку проб для исследований коллекционных образцов, в достаточном для анализа количестве в соответствии с требованиями применяемых стандартных методик, осуществляют лаборант и сотрудники УНУ.

Порядок выполнения:

1. Отбор проб для анализа проводят только из свежих семян репродукции текущего года для повышения объективности оценки. Нельзя смешивать репродукцию семян текущего и предыдущих лет.

2. Подготовку проб для анализа и передачи в структурные подразделения института проводят по мере поступления заявок на проведение оценки.

3. Список образцов для изучения и передачи в лаборатории центра готовит Руководитель Коллекции в двух экземплярах по форме в Приложении 1. Списки образцов для изучения единиц хранения составляются на основании инвентаризации информационного ресурса Коллекции.

4. Процедура передачи проб образцов на изучение оформляется Заявкой по форме в Приложении 2.

5. Каждая передача образцов в структурные подразделения центра фиксируется Руководителем Коллекции в журнале «Учета входящего и исходящего материала» с указанием количества передаваемых образцов коллекции.

Передача проб для анализа в структурные подразделения.

1. Партии образцов хранения складываются отдельно по назначению. Проверяется количество подготовленных образцов и их соответствие по списку.

2. Партии образцов разносятся с распечатанным в двух экземплярах Актом-передачи и Списком образцов в структурные подразделения под роспись. Один экземпляр сопроводительной документации возвращается в УНУ «Генетическая коллекция растительных ресурсов ВНИИССОК» и регистрируется Руководителем Коллекции в журнале «Входящего и исходящего материала».

## ПРИЛОЖЕНИЯ

### Приложение 1

Список сортообразцов, передаваемых в лабораторию (наименование  
научного подразделения) для проведения оценки

№ п/п	№ каталога	Название образца	Происхождение

Образцы передал

\_\_\_\_\_  
(Ф.И.О., должность)

Образцы принял

\_\_\_\_\_  
(Ф.И.О., должность)

\_\_\_\_\_  
Подпись

\_\_\_\_\_  
Подпись

Дата



Заведующему лабораторией

---

(наименование подразделения)  
ФГБНУ ФНЦО

---

(Ф.И.О. руководителя лаборатории)

### **ЗАЯВКА**

в лабораторию \_\_\_\_\_ Руководителя УНУ  
Генетическая коллекция растительных ресурсов ВНИИССОК  
\_\_\_\_\_/Ф.И.О./

Просим Вас провести оценку (количество цифрами) коллекционных  
сортообразцов хранения.

Список передаваемых образцов прилагается.

Подпись

Дата

## **СОП 05. Правила хранения коллекционных семян овощных, бахчевых и цветочных культур в контролируемых и неконтролируемых условиях**

Цель: Организация хранения коллекционного фонда семян овощных, бахчевых и цветочных культур с учетом сроков, способов и режимов хранения для поддержания их жизнеспособности.

Оборудование, приборы, сырье и реагенты:

1. Стол лабораторный
2. Стол рабочий для регистрации результатов исследования
3. Бумажные, фольгированные пакеты и полотняные мешки.
4. Этиловый спирт
5. Канцелярские принадлежности (ручка, карандаш, ластик, клей)
6. Термостат электрический суховоздушный
7. Шкафы для хранения образцов
8. Фольгированные пакеты различного размера для упаковки семян, подлежащих вакуумированию
9. Лабораторные весы
10. Климатическая камера для хранения семян КТВ-16000/4.15
11. Вакуумный упаковщик
12. Ручной импульсный сварщик пакетов
13. Шпатель
14. Перчатки нитриловые
15. Термометр низкотемпературный
16. Лабораторные халаты
17. Бумажные крафт-пакеты 25x35 см
18. Пластиковые ящики

Документирование:

- Журнал каталог

Для сохранения коллекционного фонда важно качество подготовки семян к хранению. Коллекции семян должны храниться в прохладном, сухом месте. Во ФГБНУ ФНЦО оборудовано отдельное помещение для хранения генофонда коллекции овощных, бахчевых и цветочных культур со шкафами, стеллажами и климатической камерой для хранения семян.

Краткосрочное хранение семян образцов овощных, бахчевых и цветочных культур осуществляют в бумажных пакетах и полотняных мешках в неконтролируемых условиях естественных температур в помещении хранилища.

Для хранения коллекций в контролируемых условиях используют режимы в охлажденном состоянии и без доступа воздуха. Для хранения в неконтролируемых условиях используют режим - в сухом состоянии. Длительное хранение семян образцов хранения осуществляется в климатической камере для хранения семян с температурой 0 - +4,5<sup>0</sup>С.

Порядок выполнения процедур:

При закладке на хранение необходимо выполнять общие правила работы с коллекционными образцами:

1. Работа с образцами проводится в отведенном для этой цели месте.
2. Приборы и инструменты для работы с образцами должны быть чистыми.
3. Для исключения возможности механического загрязнения и смешивания образцов при манипуляциях следует избегать работы с двумя и более открытыми образцами в одном рабочем пространстве одновременно.
4. При работе с единицей хранения запрещены любые действия, которые могут повлечь за собой повреждение образца, либо потерю места его хранения.
5. Емкость для хранения семян должна быть герметично закрыта и маркирована идентификационным номером коллекционного образца.
6. Режим хранения образца коллекции определяется Руководителем УНУ с учётом особенностей и специфики единицы хранения.
7. Доступ к образцам, заложенным на длительное хранение, определяет Руководитель УНУ.
8. При возможности, создаваемые для обеспечения надежности сохранения образцы должны содержать от 500 до 1000 генетически однородных семян.
9. На хранение закладывают семена со всхожестью не ниже 95 %.
10. Размер образца не должен ограничиваться каким-то конкретным минимальным количеством. Количество семян единицы хранения должно быть достаточно для проведения как минимум трех пересевов.
11. После упаковки семян коллекционный образец следует разместить на место своего постоянного хранения в соответствии с порядком размещения Генетической коллекции растительных ресурсов ВНИИССОК.
12. В процессе хранения коллекции необходимо вести регулярные наблюдения. Помещения, в которых хранятся семена, следует периодически проветривать и обеспечить меры сохранности от повреждений грызунами.

Подготовка семян коллекции к хранению.

1. Закладываются на хранение высококачественные семена.
2. Семена необходимо очистить, просушить и отсортировать.
3. Важным условием сохранности семян коллекции является их оптимальная влажность (3-7% в зависимости от культуры).
4. Сушка семян коллекционных образцов производится с использованием сушильного термошкафа.
5. Перед закладкой на длительное хранение семена каждого отдельного образца досушить до 3-7% влажности.
6. Контроль влажности проводят после сушки в термостате.
7. Для герметичной упаковки используют ручной импульсный сварщик пакетов и вакуумный упаковщик.
8. Семена, находящиеся на длительном хранении, следует извлекать редко и только в том случае, если закончились семена образца на краткосрочном хранении или семена нуждаются в тестировании всхожести.
9. Списки заложенных на хранение в холодильные камеры образцов составляются в двух экземплярах: один список хранится в Учетной папке, вторая опись хранящихся образцов крепится внутри холодильной камеры.

10. Сотрудники, работающие с Коллекцией, должны соблюдать режимы сушки и хранения, нормы расхода электроэнергии и ресурсов.

## **СОП 06: Определение посевных качеств образцов семян овощных, бахчевых и цветочных культур**

Цель: обеспечение надежности сохранения накопленного материала в коллекции и проведение профилактических работ по оценке сохранности образцов.

Оборудование, приборы, сырье и реагенты:

1. Столы лабораторные
2. Стол рабочий для регистрации результатов исследования
3. Этиловый спирт
4. Канцелярские принадлежности (ручка, карандаш)
5. Термостат
6. Компьютер Asus, принтер Epson
7. Программное обеспечение Microsoft office-2010
8. Шкафы для хранения образцов
9. Шпатель
10. Чашки Петри
11. Бумага фильтровальная
12. Марля
13. Пинцет
14. Перчатки, халаты

Документирование:

- лабораторный рабочий журнал

Поддержание жизнеспособности, генетической целостности и качества образцов семян в генбанках и хранилищах семян научных учреждений, а также обеспечение возможности их использования являются конечной целью работы коллекций. Проверка на всхожесть является ориентиром для определения жизнеспособности, и даже небольшие пробы семян могут предоставить Кураторам коллекций полезную информацию.

Порядок выполнения:

1. Первая проверка исходной всхожести семян коллекционных образцов должна проводиться как можно раньше, прежде чем семена будут упакованы и помещены на хранение, а последующие проверки проводятся через установленные интервалы в течение срока хранения. Исходный показатель всхожести должен быть не ниже 85 % для большинства образцов коллекции свежей репродукции.
2. Интервалы между проверками жизнеспособности должны соответствовать сроку, в течение которого, как ожидается, что всхожесть упадет ниже 50%. Для краткосрочного хранения это 3 года, а для долгосрочного хранения - 10 лет.
3. До начала выполнения процедуры достаются по списку из шкафов пакеты с образцами в количестве не более 100 единиц хранения.
4. Проводится сначала оценка качества семян органолептически: по запаху, цвету и их внешним признакам. При закладке в чашки Петри биологической

пробы контролируется общее состояние образца после хранения. Перед началом отсчета семян для анализа следует осмотреть весь образец в таре на наличие поврежденных, плесневелых, имеющих внешние изменения семян.

5. Подготавливается требуемое количество чашек Петри, тщательно вымывается, высушивается, обрабатывается изнутри смоченной в этиловом спирте марлей.

6. Для проращивания семян в качестве подстилки (ложе) применяют фильтровальную бумагу. Фильтровальную бумагу применяют белую, не окрашенную ядовитым составом. Используют ее в форме кружков (в чашках Петри).

7. Размеры пробы для проверки жизнеспособности будут зависеть от количества семян образца, но при этом быть максимально большим для обеспечения статистической точности, необходимо свести к минимуму размер такой пробы, чтобы избежать пустой траты семян.

8. Для определения всхожести из фракции чистых семян образца отсчитывают две пробы по 100 шт., для малосемянных образцов - две пробы по 50 семян в каждой.

9. Для увлажнения подстилки используют воду комнатной температуры. Подстилку (фильтровальную бумагу) увлажняют непосредственно перед закладкой семян на всхожесть. Семена помещают на увлажненное ложе для проращивания (фильтровальную бумагу). Закрывают чашку Петри верхней крышкой.

Перед закладкой в термостат на проращивание готовят всю партию коллекционных образцов (не менее 100 единиц хранения). Меньшее количество экономически неоправданно по затратам электроэнергии. Включают термостат, и чашки Петри с семенами в термостате ставят одну на другую в два яруса.

10. Нельзя допускать подсыхания подстилки, для этого сотрудники ее увлажняют ежедневно в течение 7 дней проращивания, применяя пульверизатор или лейку. При этом каждый образец ежедневно вынимается из термостата для увлажнения, открывается чашка Петри и вновь ставится в термостат.

11. Проращивание ведут в термостате-растительном в темноте при  $25 \pm 3^\circ\text{C}$ , для оценки всхожести на 7 день подсчитывают количество проросших семян. Сотрудник Коллекции ежедневно осуществляет контроль температуры в термостате.

12. Термостат один раз в сутки в течение 7 дней вентилируют путем открывания дверцы на 3-5 мин. для удаления конденсата влаги.

13. На третьи сутки определяют для каждой единицы хранения энергию прорастания по ГОСТ20290-74. После оценки энергии прорастания чашки Петри с проростками в термостате держат в открытом состоянии.

14. Для оценки всхожести на 7 сутки чашку Петри вынимают из термостата, подсчитывают число всхожих семян (имеющих нормально развитые корешки размером не менее длины семени и росток не менее половины длины семени). Повторяют действие для второй повторности образца. Процент всхожести

устанавливают, как среднее арифметическое из двух сотен проанализированных семян. Окончательный результат определения выражают в целых процентах с округлением, при этом доли менее 0,5 % отбрасывают, а доли 0,5 % и более считают за 1 %.

15. Определяют для каждого образца интенсивность роста проростков (в баллах) на 7 сутки.

16. Проводят учет количества аномально прорастающих семян.

17. Одновременно с определением всхожести и энергии прорастания по СОП проводят учет поражения семян плесневыми грибами. Средний процент пораженных семян определяют по двум пробам, после чего устанавливают ее степень.

18. Все данные и информацию, полученную в ходе определения жизнеспособности, необходимо регистрировать и учитывать в системе документирования. Руководитель УНУ проверяет наличие Форм для регистрации данных по мониторингу (Приложение 1) у сотрудников и лаборантов и регулярность их заполнения.

19. После определения жизнеспособности семян, образец с низкой всхожестью вносится в списки образцов, требующих срочного восстановления всхожести.

20. После проверки жизнеспособности семян все образцы возвращаются на прежнее место хранения в соответствии с Правилами размещения в коллекции.

Нормативно-справочная документация и литература:

1. ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести.

2. ГОСТ 24933.0-81 Семена цветочных культур. Правила приемки и методы отбора проб.

# ПРИЛОЖЕНИЕ

## Приложение 1

Форма для регистрации результатов оценки жизнеспособности

Номер каталога /год репродукц.	Разновидность	Дата закладки в термостат	Кол-во семян в ЧП, шт.	Кол-во всхожих семян, шт.	Всхожесть семян, %	Интенсив. роста пророст. в ЧП на 7 день, балл	Энергия прорастания на 3 сутки, %	Примечание	Способ хранения образца

Подпись \_\_\_\_\_  
Дата \_\_\_\_\_



## **СОП 07: Определение влажности образцов семян овощных, бахчевых и цветочных культур**

Цель: контроль влажности коллекционных образцов семян овощных, бахчевых и цветочных культур при закладке на длительное хранение.

Оборудование, приборы, сырье и реагенты:

1. шкаф сушильный электрический с вентиляцией, позволяющий поддерживать в рабочей камере температуру от 100 °С до 150 °С с погрешностью  $\pm 2$  °С
2. влагомер электрический с погрешностью измерения, %, абсолютной влажности: при влажности в диапазоне до 18 % -  $\pm 1,5$ , при влажности в диапазоне свыше 18 % -  $\pm 2,0$
3. весы лабораторные не ниже 3-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г
4. мельницу лабораторную электрическую с числом оборотов ножа не менее 8000 в минуту
5. секундомер
6. часы сигнальные
7. стеклянные стаканчики с притертыми крышками; бюксы сетчатые с сетчатыми крышками для подсушивания семян; бюксы алюминиевые с крышками для высушивания семян; щипцы тигельные
8. аппарат для ускоренного охлаждения семян типа АУО (охладитель)
9. плиту из нержавеющей металла размером ориентировочно 300 x 400 x 10 мм для охлаждения бюкс с навесками семян;
10. эксикатор
11. совок
12. ложечку
13. вазелин технический; кальций хлористый

Документирование:

- лабораторный рабочий журнал

Порядок выполнения:

1. Определение влажности проводят не позднее 2 сут с момента поступления образца.
2. В зимнее время охлажденную пробу семян перед анализом выдерживают при комнатной температуре не менее 2 ч.
3. Сушильный шкаф включают в электросеть и разогревают до требуемой температуры.
4. На дно эксикатора помещают обезвоженный хлористый кальций, который не реже одного раза в месяц прокаливают или заменяют новым. Пришлифованные края эксикатора смазывают тонким слоем вазелина.
5. Стеклянные стаканчики и бюксы нумеруют, а алюминиевые бюксы, кроме того, взвешивают вместе с крышками до сотых долей грамма.

Проведение анализа

1. Из средней пробы, предназначенной для определения влажности, после тщательного ее перемешивания путем встряхивания сосуда отбирают от крупносеменных культур 45-50 г семян, от мелкосеменных – 23-25 г, за исключением культур, масса средней пробы которых допускается 50 г и менее.
2. Взятые из средней пробы семена делят на две примерно равные части: одну часть используют для анализа, другую помещают в стеклянный стаканчик с притертой крышкой и сохраняют до конца анализа на случай повторного определения влажности.
3. Семена, предназначенные для анализа, размалывают на электрической лабораторной мельнице.
4. Измельченную массу семян переносят в стеклянный стаканчик и перемешивают ложечкой (3-5 с).
5. Из измельченных или целых семян, для которых измельчение не предусмотрено, отвешивают в алюминиевые бюксы две навески массой по 5,00 г каждая. Для культур, масса средней пробы которых 50 г и менее, навески выделяют непосредственно из средней пробы.
6. Бюксы с навесками семян ставят на крышки и помещают в разогретый до требуемой температуры сушильный шкаф в один ряд на каждой полке.  
Высушивание проводят в соответствии с режимами (ГОСТ 12041-82).  
Время высушивания отсчитывают с момента восстановления заданной температуры после загрузки шкафа.
7. По окончании установленного времени высушивания бюксы с навесками вынимают из сушильного шкафа тигельными щипцами, закрывают крышками и ставят для охлаждения на 8-10 мин на металлическую плиту или на 15-20 мин в эксикатор. После охлаждения (но не позже чем через 30 мин) бюксы взвешивают вместе с крышками до сотых долей грамма.
8. Определение влажности семян с предварительным подсушиванием
  - 8.1. Для семян зернобобовых культур с влажностью более 18% при любой исходной влажности применяют двухступенчатую сушку, включающую предварительное и основное высушивание. Необходимость предварительного подсушивания семян устанавливают, определяя влажность электрическим влагомером.
  - 8.2. Из отобранных семян отвешивают 20 г, помещают их в сетчатую бюксу, закрывают сетчатой крышкой и подсушивают в соответствии с требованиями (ГОСТ 12041-82).
  - 8.3. Подсушенные семена после охлаждения в течение 5 мин на охладителе или в течение 10-15 мин на металлической плите пересыпают в чашку весов и взвешивают до сотых долей грамма, а затем размалывают.
  - 8.4. Из размолотых семян отвешивают в алюминиевые бюксы две навески массой по 5,00 г и анализ проводят.
  - 8.5. Обработку результатов делают согласно ГОСТ 12041-82.
- Определение влажности цветочных культур проводят согласно ГОСТ 24933.3-81.

Нормативно-справочная документация и литература:

1. ГОСТ 12041-82 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения влажности.
2. ГОСТ 24933.3-81 Семена цветочных культур. Методы определения влажности.

## Генетическая паспортизация образцов хранения Описание сортов используемых в работе Перец

**Линия К. Ч.** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*). Среднеранняя. Растение полудетерминантное, компактное, густооблиственное. Форма плода кубовидная, гладкая, с вогнутой верхушкой. Длина плода 8-9 см, диаметр – 7-8,5 см, толщина стенки – 6-7 мм. Средняя масса – 105 г. Окраска в технической спелости темно - зеленая, в биологической спелости – темно - красная. Семенных камер – три-четыре. Источник крупноплодности и красной насыщенной окраски плода.

**Л – 33** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*). Среднеранний. Растение индетерминантное, густооблиственное. Форма плода цилиндрическая, гладкая с вогнутой вершиной. Длина плода 9 см, диаметр – 6-7,5 см, толщина стенки 7 мм. Средняя масса плода 150 г. Окраска плода в технической спелости белая, в биологической – ярко красная. Семенных камер – три-четыре. Имеет высокую комбинационную способность, источник белой окраски плода в технической спелости.

**Тип Spady** - (*Capsicum annuum L. var. longum Sendt*)

Раннеспелый. Растение индетерминантное, слабооблиственное. Плоды удлинено-конусовидной формы, очень длинные – до 20-25 см, диаметр – 4-4,5 см, толщина стенки - 4,5-5,5 мм. Плоды волнистые у основания. Плодоножка очень длинная. Семенных камер – две. Окраска плода в технической спелости темно-зеленая, в биологической спелости – темно-красная. Семенных камер - две. Источник очень длинного (до 30 см) плода.

**Рубин** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*).

Среднеранний сорт, от всходов до технической спелости проходит 110-115 суток. Растение, полураскидистое. Плоды конусовидные, гладкие, пониклые, окраска в технической спелости зеленая, в биологической – красная. Средняя масса плода 100 г. Длина плода 12-17см, диаметр 5-6 см, толщина стенки перикарпия 5,5-6,5 мм. Имеет высокую комбинационную способность, часто используется в скрещиваниях для создания исходного гибридного материала и получения гетерозисных гибридов F1. Семенных камер – две-три. Имеет высокую комбинационную способность, является источником толстого перекарпия.

**Фестиваль** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Среднеспелый сорт. Растение полудетерминантное, компактное, густооблиственное. Форма плода цилиндрическая, гладкая, с вогнутой верхушкой и небольшой вдавлиной у плодоножки. Длина плода 9-10см, диаметр – 7-8,5 см, толщина стенки – 6-7 мм. Средняя масса – 100-120 г. Окраска в технической спелости темно - зеленая, в биологической спелости – темно – красная, желтая. Семенных камер – три - четыре. Источник скороспелости из группы кубовидных.

**Тип Маркони** – (*Capsicum annuum L. var. longum Sendt*)

Среднеспелый. Растение индетерминантное, слабооблиственное. Плоды удлинено-конусовидной формы, длина – до 20см, диаметр – 4-4,5 см,

толщина стенки – 4,0-4,5 мм. Плоды волнистые у основания. Плодоножка очень длинная. Семенных камер - две. Окраска плода в технической спелости темно-зеленая, в биологической спелости – темно-красная. Источник очень длинного (до 30 см) плода.

**Чаймс** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Среднеспелый. Растение индетерминантное, среднеоблиственное. Плоды цилиндрические, ровные, гладкие, без вдавлины у плодоножки, не крупные. Средняя масса плода 80г. Длина плода 8 см, диаметр – 6-7 см. Толщина стенки – 5-5,5 мм. Окраска в технической спелости темно-зеленая, в биологической спелости – темно – красная слабо глянцева. Семенных камер – три - четыре. Источник устойчивости к TMV, CMV и толерантности к TSWV.

**Раиса** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Среднеранний. Растение полудетерминантное, компактное, густооблиственное. Форма плода кубовидная, слабо ребристая, с вогнутой верхушкой. Длина плода 9-10 см, диаметр – 8-9 см, толщина стенки до 7 мм. Средняя масса – 150 г. Окраска в технической спелости темно-зеленая, в биологической спелости – желтая. Семенных камер – три - четыре. Источник устойчивости к TMV.

**Пурпурная красавица** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Среднеранняя линия. Растение полудетерминантное, компактное, густооблиственное. Форма плода кубовидная, гладкая, с вогнутой верхушкой. Длина плода 8-9 см, диаметр – 7-8,5 см, толщина стенки – 6-7 мм. Средняя масса – 125 г. Окраска в технической спелости темно-фиолетовая, в биологической спелости – темно - красная. Семенных камер – три-четыре. Линия толерантна к TSWV. Источник фиолетовой окраски в технической спелости.

**Тип Мазурка** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Среднеранняя линия. Растение полудетерминантное, компактное, среднеоблиственное. Форма плода кубовидная, гладкая, с вогнутой верхушкой. Длина плода 8-8,5 см, диаметр – 7-8 см, толщина стенки – 6-7 мм. Средняя масса – 115 г. Окраска в технической спелости темно-зеленая, в биологической спелости – коричневая. Семенных камер – три-четыре. Источник устойчивости к TMV, оригинальная коричневая окраска.

**Оранжевое Чудо** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Среднеранняя линия. Растение полудетерминантное, раскидистое, густооблиственное. Форма плода кубовидная, гладкая, с вогнутой верхушкой и вдавлиной у плодоножки. Длина плода 8-9 см, диаметр – 8-8,5 см, толщина стенки – 6-7 мм. Средняя масса – 125 г. Окраска в технической спелости темно-зеленая, в биологической спелости – темно-оранжевая (морковная). Семенных камер – три-четыре. Мякоть очень нежная, быстро подвергается заболеванию серой гнилью. Источник крупноплодности и оригинальной оранжевой окраски.

**Тип Pirati** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Среднеранняя линия. Растение полудетерминантное, компактное, густооблиственное. Форма плода цилиндрическая, гладкая, с вогнутой

верхушкой и небольшой вдавлиной у плодоножки. Длина плода 12-13 см, диаметр – 6-7,5 см, толщина стенки – 6-7 мм. Средняя масса – 200 г. Окраска в технической спелости темно-зеленая, в биологической спелости – темно-красная. Семенных камер – три-четыре. В малообъемной культуре чаще других поражается вершинной гнилью. Источник цилиндрической формы плода.

**Отбор из Memphis – (*Capsicum annuum* L. var. *grossum* Sendt)**

Позднеспелая линия. Растение полудетерминантное, компактное, густооблиственное. Форма плода кубовидная, гладкая, с вогнутой верхушкой и без вдавлины у плодоножки. Длина плода 7-8 см, диаметр – 6-7,5 см, толщина стенки – 7-9 мм. Средняя масса – 100 г. Окраска в технической спелости темно-зеленая, в биологической спелости – красная. Семенных камер – три-четыре. Имеет высокую комбинационную способность, часто используется в скрещиваниях для создания исходного гибридного материала и получения гетерозисных гибридов F1. Источник толстого перекарпия.

**Гибрид 167 – (*Capsicum annuum* L. var. *grossum* Sendt)**

Ранняя линия. Растение индетерминантное, полураскидистое, густооблиственное. Форма плода цилиндрическая, с вогнутой верхушкой и небольшой вдавлиной у плодоножки, текстура поверхности плода ребристая. Длина плода 9-10 см, диаметр – 6-6,5 см, толщина стенки – 6-7 мм. Средняя масса – 105 г. Окраска в технической спелости темно-зеленая, в биологической спелости – темно-красная. Семенных камер – три-четыре. Источник скороспелости из группы кубовидных.

**Линия Болеро – (*Capsicum annuum* L. var. *grossum* Sendt)**

Среднеспелая линия. Растение индетерминантное, компактное, среднеоблиственное. Форма плода цилиндрическая, гладкая, с вогнутой верхушкой и без вдавлины у плодоножки. Длина плода 9-10 см, диаметр – 6-7,5 см, толщина стенки – 6-7 мм. Средняя масса – 100 г. Окраска в технической спелости темно-зеленая, в биологической спелости – красная. Семенных камер – три-четыре. Имеет высокую комбинационную способность, часто используется в скрещиваниях для создания исходного гибридного материала и получения гетерозисных гибридов F1. Линия толерантна к TSWV.

**Линия Шарм – (*Capsicum annuum* L. var. *grossum* Sendt)**

Среднеспелая линия. Растение индетерминантное, мощное, полураскидистое, среднеоблиственное. Форма плода цилиндрическая, гладкая, с вогнутой верхушкой и без вдавлины у плодоножки. Длина плода 8-9 см, диаметр – 6-7,5 см, толщина стенки – 6-7 мм. Средняя масса – 110-120 г. Окраска в технической спелости зеленая, в биологической спелости – красная. Семенных камер – три-четыре. Имеет высокую комбинационную способность, часто используется в скрещиваниях для создания исходного гибридного материала и получения гетерозисных гибридов F1. Линия относительно толерантна к TSWV.

**Линия Шрегеда – (*Capsicum annuum* L. var. *grossum* Sendt)**

Среднеспелая линия. Растение индетерминантное, полураскидистое, среднеоблиственное. Форма плода цилиндрическая, гладкая, с вогнутой

верхушкой и без вдавлины у плодоножки. Длина плода 8-9,5 см, диаметр – 6-7,5 см, толщина стенки – 6-7 мм. Средняя масса – 108 г. Окраска в технической спелости темно-зеленая, в биологической спелости – красная. Семенных камер – три-четыре. Имеет высокую комбинационную способность, часто используется в скрещиваниях для создания исходного гибридного материала и получения гетерозисных гибридов F1. Линия относительно толерантна к TSWV.

**Линия Бенда** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Среднеспелая линия. Растение индетерминантное, компактное, среднеоблиственное. Форма плода цилиндрическая, гладкая, с вогнутой верхушкой и без вдавлины у плодоножки. Длина плода 8-9 см, диаметр – 6-7,5 см, толщина стенки – 6-7 мм. Средняя масса – 112-130 г. Окраска в технической спелости темно-зеленая, в биологической спелости – красная. Семенных камер – три-четыре. Имеет высокую комбинационную способность, часто используется в скрещиваниях для создания исходного гибридного материала и получения гетерозисных гибридов F1. Линия относительно толерантна к TSWV.

**Медаль** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Раннеспелый сорт. Растение индетерминантное высокорослое, полураскидистое. Форма плода конусовидная, с тупой верхушкой. Текстура поверхности плода волнистая. Длина плода 12 см, диаметр – 5 см, толщина стенки 5 мм. Средняя масса 70 г. Семенных камер 2-3. Окраска плода в технической спелости светло-зеленая, в биологической - красная.

Отличается растянутым периодом плодоношения, обладает относительной устойчивостью к холоду и резким перепадам температур.

**Екатерина** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Раннеспелый, период от всходов до технической спелости плодов составляет 108 -110 суток. Получен методом гибридизации двух линий Л-Шарм х Л- Крупный сладкий.

Растение индетерминантное, высокорослое, полураскидистое. Плоды цилиндрические, слегка волнистые, гладкие, глянцевые. Окраска в технической спелости светло-зеленая, в биологической – красная. Длина плода 12-15 см, диаметр 6,5-7,5 см., толщина стенки перикарпия 6,5 – 7,0 мм. Средняя масса плода 120-150г. Семенных камер – три-четыре. Отличается хорошей завязываемостью плодов и дружным созреванием.

**Белоснежка** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Раннеспелый сорт, от всходов до технической спелости 95-110 суток. Получен методом индивидуального отбора из гибридной комбинации (Отбор из W.Bruinsma х Л-Soroksary) х Л- Garden Sunshine. Растение полудетерминантное, компактное, густооблиственное. Плоды конусовидные, гладкие, глянцевые, красивые, белой окраски в технической, и красные в биологической спелости. Длина плода 10-12 см, диаметр 5-7 см, толщина стенки перикарпия 7,0-8,0 мм. Средняя масса плода 90-120 г.

Толерантен к TSWV, TMV, CMV.

**Мария** (*Capsicum annuum L. var. pomijera Fing.*)

Раннеспелый. Период от всходов до технической спелости 103-108 суток. Создан на основе двух линий: Л-Цитрон х Л-Бенда. Растение индетерминантное, среднерослое, компактное, слабооблиственное. Форма плода плоскоокруглая, ребристая с вогнутой вершиной. Длина плода 7-8 см, диаметр 8-9 см, толщина стенки 6-7мм. Средняя масса 100- 110 г. Окраска плода в технической спелости светло-зеленая, в биологической – розово-красная. Источник округлой формы плода.

**Желтый букет** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*) Среднеранний сорт, от всходов до технической спелости проходит 110-115 суток. Получен методом индивидуального отбора из гибридной комбинации Л-Иней х Л-93. Растение полураскидистое, среднеоблиственное.

Плоды цилиндрические, гладкие, пониклые, окраска в технической спелости зеленая, в биологической – лимонно-желтая, со средней массой плода 150 г. Длина плода 9-10 см, диаметр 6-7 см, толщина стенки перикарпия 5,5-6,5 мм.

Сорт устойчив к холоду и имеет толерантность к TSWV.

**Ежик** (*Capsicum annuum L. var. fasciculatum Sturt*)

Среднеспелый сорт. Биологическая спелость плодов наступает на 137-145 сутки. Растение супердетерминантное, низкорослое, с букетным расположением плодов, густооблиственное, компактное. Подвязки не требует. Плод мелкий, сердцевидной формы, вверхторчащий. В технической спелости зеленый, в биологической спелости темно-красный. Средняя масса плода - 18 г, длина 4,0-4,5 см, диаметр 3,0-4,5 см.

Плод относится к сорто типу *наприка*, характеризуется высоким содержанием сухого вещества и используется для приготовления сладкого витаминного порошка. Источник высокого содержания сухого вещества.

**Маяк** (*Capsicum annuum L. var. fasciculatum Sturt*)

Очень скороспелый сорт. Биологическая спелость наступает на 120-125 сутки от появления всходов. Растение супердетерминантное, с букетным расположением плодов, компактное, среднеоблиственное. Плоды конусовидные, вверхторчащие, букетного типа. Средняя масса плода 25 г, длина 8-13 см, диаметр 2-3 см. Семенных камер две. Окраска плода в технической спелости зеленая, биологической спелости – темно-красная. Плод относится к сорто типу *наприка*. Стенка плода тонкая с высоким содержанием сухого вещества (20%) и витамина С (300мг%). Плоды предназначены для высушивания и приготовления порошка. Источник скороспелости, высокого содержания сухого вещества и витамина С.

**Каскад** - (*Capsicum annuum L. var. longum Sendt*)

Среднеспелый сорт. Техническая спелость плодов наступает на 110-115 сутки, биологическая на 139-142 сутки после появления всходов. Растение индетерминантное, полураскидистое, среднеоблиственное. Плоды массой 50-55 г, хоботовидные слегка изогнутые. Длина плода 14-18 см, а ширина 3,5-4,0 см. Семенных камер две. Окраска в стадии технической спелости светло-зеленая, в биологической красная.



Вкусовые качества высокие. Мякоть плодов имеет сильный перечный аромат. Плоды использования для получения *наприки*. Источник высокого содержания сахаров.

**Золотой дождь** (*Capsicum annuum L. var. pomijera Fing.*)

Среднеранний сорт. От всходов до технической спелости плодов 116 суток. Получен методом индивидуального отбора с оценкой по потомству из гибридной комбинации Новочеркасский х Л-Юбилейный. Растение индетерминантное высокорослое, компактное. Плоды ребристые, плоскоокруглые, зеленые в технической спелости и желтые в биологической. Длина плода 5-6 см, диаметр 7-8 см, толщина стенки перикарпия 5,5-6,5 мм. Семенных камер 3-4-5. Мякоть мясистая с тонким перечным ароматом и сладким вкусом. Средняя масса плода 60-65 г. Источник округлой формы плода.

**Хризолит** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Раннеспелый. От всходов до технической спелости проходит 105-110 суток. Создан на основе двух раннеспелых линий: Л-Сирень х Л-Топ.

Растение индетерминантное, полураскидистое, среднеоблиственное. Плоды конусовидные, гладкие, ровные, сильно глянцевые, массой 80-100 г. Окраска в технической спелости светло зеленая, в биологической - красная. Длина плода 12-14см, диаметр - 5-6 см, толщина стенки перикарпия 5,5-6,0 мм. Отличается высокой урожайностью и длительным периодом плодоношения.

**Очарование** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Раннеспелый, от всходов до технической спелости плодов составляет 108-112 суток. Создан на основе двух раннеспелых линий Л-Рубин х Л-Дубрава. Растение индетерминантное, полураскидистое, слабооблиственное.

Плоды конусовидные, гладкие, глянцевые, окраска в технической спелости светло-зеленая, в биологической спелости красная, средняя масса плода 95-100г. Длина плода 12-15см, диаметр 5-6см, толщина стенки перикарпия 5,5-6,5 мм.

Отличается высокой завязываемостью плодов и устойчивостью к резким перепадам температуры.

**Карлик** (*Capsicum annuum L. var. fasciculatum Sturt*)

Раннеспелый сорт, от всходов до технической спелости плодов проходит 100-105 суток. Растение супердетерминантное, компактное, слабооблиственное, неветвистое, высотой 30-35 см с букетным расположением плодов.

Плоды конусовидные, блестящие, гладкие, верхторчащие. Длина плода 10-15 см, диаметр 4-5см, толщина стенки перикарпия 9,0-9,5 мм. Средняя масса плода 80-100 г. Семенных камер 2-3. Окраска плода в технической спелости молочно-желтые, в биологической – ярко красная.

Сорт сильно поражается вирусной инфекцией и является стандартом восприимчивости к TSWV.

**Сибиряк** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Среднеспелый, период от всходов до технической спелости плодов составляет 115-118 суток. Создан на основе двух линий Л-Агаповский х Л-Шарм.

Растение полудетерминантное, густооблиственное. Плоды кубовидные, гладкие, окраска в технической спелости темно-зеленая, в биологической – красная. Длина плода 10-12 см., диаметр-6,5-8,0 см., толщина стенки перикарпия 6,5-7,5мм. Средняя масса плода 110-115г.

Гибрид обладает комплексной устойчивостью к вирусным заболеваниям перца (TMV, CMV). Толерантен к TSWV.

**Малыш** (*Capsicum annuum L. var. fasciculatum Sturt*)

Среднеспелый сорт. Растение супердетерминантное, низкорослое, компактное с букетным расположением плодов. Плод конусовидный, ровный, глянцевый, вверхторчащий. Длина плода 8-10 см, диаметр - 3,5-4,5 см. Средняя масса 38 г. Окраска плода в технической спелости - фиолетовая, в биологической - темно-красная.

Плод относится к сорто типу *наприка*, характеризуется высоким содержанием сухого вещества (20%) и витамина С (246 мг%) и используется для приготовления сладкого витаминного порошка. Источник высокого содержания витамина С и сухого вещества.

**Руза** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Раннеспелый, период от всходов до технической спелости плодов составляет 92-104 суток. Создан при помощи гибридизации двух раннеспелых линий: Л-Рубин х Л-Здоровье. Растение индетерминантное, полураскидистое, слабооблиственное.

Плоды конусовидной формы, гладкие, средней массой 90-100г. Длина плода 12-15см, диаметр плода 5-6см, толщина стенки перикарпия 6,0-6,5мм. Окраска плода в технической спелости зеленая, в биологической - красная.

Обладает отличной завязываемостью плодов даже при резких перепадах температуры, особенно ранней весной и осенью. Холодостойкий.

**Ария** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Среднеспелый, период от всходов до технической спелости плодов составляет 120-125 суток. Создан на основе гибридизации двух раннеспелых линий: Л-Ариана1 х Л-Ариана2. Растение полудетерминантное, высокорослое, компактное. Плоды кубовидные, крупные, средней массой 120-130 г (до 200 г). Окраска плодов в технической спелости темно - зеленая, в биологической – темно-оранжевая (морковная). Длина плода 10-14 см, диаметр 7-8 см, толщина стенки перикарпия 7,0-7,5 мм. Семенных камер 3-4. Имеет очень нежную мякоть. Источник оригинальной окраски плода.

**Изабелла** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Среднеспелый, от всходов до стадии технической спелости плодов проходит 120-130 суток. Создан на основе гибридизации двух линий: Л-510 х Л-286. Растение индетерминантное, компактное, густооблиственное.

Плоды призмовидные, гладкие, глянцевые, ровные, без вдавлины, крупные, светло-зеленые в технической спелости и ярко-красные в биологической. Средняя масса плода 120-150 г, максимальная 220 г. Длина

плода 12-13см, диаметр плода 5-6см, толщина стенки до 8-10 мм. Семенных камер 2-3. Источник толстого перекарпия.

**Златозар** - (*Capsicum annuum L. var. longum Sendt*)

Раннеспелый сорт. Создан методом индивидуального отбора из гибридной комбинации: (Длинный желтый х Л- Spady) х Желтоплодный. Растение индетерминантное, высокое, компактное, среднеоблиственное.

Плоды удлинено-конусовидной формы. Длина плода 18-22 см, диаметр – 4-5 см, толщина стенки 5-5,5 мм. Средняя масса плода 88-95 г. Окраска плода в технической спелости зеленая, в биологической – желтая.

Относительно толерантен к TSWV.

**Л-71** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Ранний, от всходов до стадии технической спелости плодов проходит 112-115 суток. Создан на основе гибридизации двух линий: Желтоплодный х Л-Garden Sunshain. Растение индетерминантное, компактное, среднеоблиственное.

Плоды призмовидные, гладкие, глянцевые, ровные, без вдавлины, крупные, белые в технической спелости и желто-оранжевые в биологической. Средняя масса плода 110-120 г. Длина плода 12-13см, диаметр плода 6-7 см, толщина стенки до 7 мм. Семенных камер 2-3.

Холодостойкий.

**Сирень** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Спонтанный мутант, обладающий сильно выраженной лонгостилией, закрепленной в потомстве. Очень ранний, от всходов до стадии технической спелости плодов проходит 85-90 суток. Растение индетерминантное, полураскидистое, слабооблиственное.

Плоды конусовидные, ровные, гладкие, глянцевые, без вдавлины. Семенных камер 2-3. Окраска плода в технической спелости –светло-зеленая, в биологической – красная. Средняя масса плода 60-70 г. Длина плода 10-11см, диаметр плода 5-6 см, толщина стенки до 5мм.

Имеет высокую комбинационную способность. Используется в качестве материнской линии для получения гибридов без кастрации. Источник лонгостилии.

**Агаповский** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Сорт среднеранний, от всходов до технической спелости плодов 115 - 120 суток.

Растение, полудетерминантное, компактное, густооблиственное. Плод кубовидный, гладкий, глянцевый, со слабо выраженной ребристостью, массой 118-122г. Длина плода 10-12см, диаметр 8-9см, толщина стенки перекарпия 7,5-8,0мм, с отличным перечным вкусом.

Сорт устойчив к CMV, толерантен к TMV и сильно поражается TSWV.

**Здоровье** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Очень раннеспелый сорт. От всходов до стадии технической спелости плодов проходит 85-90 суток. Растение индетерминантное, высокорослое, полураскидистое. Форма плода конусовидная, гладкая с острой вершиной. Длина плода 11см, диаметр 5 см, толщина стенки 4 мм. Средняя масса – 60-

70г. Окраска в технической спелости светло-зеленая, в биологической – красная. Текстура поверхности плода волнистая.

Отличается высокой завязываемостью плодов при пониженной освещенности. Устойчив к вершинной гнили плодов, толерантен к TMV и CMV. Устойчив к холоду. Источник скороспелости.

**Отелло** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Раннеспелый. Растение индетерминантное, сильнорослое, компактное. Форма плода конусовидная с острой вершиной, без вдавлины у плодоножки. Семенных камер 2-3. Длина плода 12-13 см, диаметр 5-6 см, толщина стенки 6-7мм. Средняя масса – 100 г. Окраска в технической спелости – фиолетовая, в биологической – бордово-красная. Холодостойкий. Источник фиолетовой окраски.

**Родник** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Раннеспелый сорт, от всходов до технической спелости проходит 110-115 суток. Получен методом индивидуального отбора с оценкой по потомству из гибридной популяции Л-Рубин х Л-Дубравка. Растение, индетерминантное, полураскидистое. Плоды конусовидные, гладкие, пониклые, окраска в технической спелости зеленая, в биологической – красная, со средней массой плода 100 г. Длина плода 12-15см, диаметр 5-6 см, толщина стенки перикарпия 5,5-6,5 мм.

Холодостойкий.

**Нежность** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Среднеспелый сорт. Растение индетерминантное, сильнорослое, полураскидистое. Форма плода призмовидная, слегка волнистая с втянутой вершиной. Длина плода 14 см, диаметр – 7 см, толщина стенки – 7-8 мм. Средняя масса 95-100 г. Окраска светло-зеленая, в биологической спелости - красная. Кожица нежная, мякоть сочная. Источник волнистого перекарпия.

**Сиреневый туман** – (*Capsicum annuum L. var. grossum Sendt*)

Среднеранний. Растение полудетерминантное, полураскидистое. Положение плода на растении пониклое. Плод кубовидной формы, гладкий, глянцевый. Масса плода 130-140 г, длина 9-11 см, диаметр 6-7 см, толщина стенки 5-7 мм. Плоды в технической спелости ярко сиреневые, в биологической – красные. Источник оригинальной сиреневой окраски плода.

***Capsicum frutescens L.*** – перец кустарниковый. Растение высотой до 60 см с ветвистыми стеблями и мелкими эллиптическими листьями, хорошо развитой корневой системой. Цветки диаметром до 2-х см, белые или сероватые с фиолетовыми пятнами, расположены в извилинах ветвей и пазухах листьев одиночно или попарно. Плод – ягода с малосочным околоплодником. Плоды пониклые или торчащие, одиночные или собранные в пучки по 2-4 шт., длиной 2,5-5,0 см, диаметром – 1,0 см, шаровидные, гладкие. Окраска плода в технической спелости фиолетовая, в биологической ярко-красная. В процессе развития плоды изменяют окраску от зеленой, фиолетовой, оранжевой до красной. Плоды расположены очень красиво, в сочетании с зелеными листьями образуют яркий букет. Мякоть плодов по вкусу очень острая, со специфическим перечным ароматом. Острый вкус

плодов обусловлен содержанием в них капсаицина, которого в 20 раз больше, чем в плодах сладкого перца. Источник высокой декоративности и высокого содержания капсаицина.

***Capsicum chinense* Jacq.** – перец китайский, имеющий характерное висячее расположение плодов. Растение вида *Capsicum chinense* завязывает по 2-6 плодов в каждой пазухе. Плоды удлинённые, с волнистой поверхностью. Длина плода 3,5-4,0 см, диаметр – 2,0-2,5 см. Окраска незрелых плодов зеленая, в биологической спелости – красная. Плоды жгучие и ароматичные. Жгучесть устойчиво сохраняется во время приготовления. Источник устойчивости к TSWV.

***Capsicum baccatum*** – ягодовидный перец. Растение вида *C. baccatum* короткодневное, очень требовательное к теплу и влаге. Все разновидности и формы его характеризуются продолжительным вегетационным периодом. Высота растений до 125 см. Ягоды пониклые, одиночные, овальные, гладкие. Окраска незрелых плодов светлозеленая, в биологической спелости – красная. Плоды *C. baccatum* отличаются очень острым вкусом и специфическим приятным запахом.

**Методы выделения растительной ДНК.** Выделение тотальной растительной ДНК проводилось с использованием методики, предложенной Edwards et al. (1991), с дополнительной депротенинизацией смесью фенол/хлороформ. Данная методика позволяет проводить быстрое выделение/экстракцию тотальной ДНК в достаточном количестве (более 5 мкг) и высокого качества (OD 260/280 1,6-1,9).

Для выделения использовались 8-10 дневные проростки индивидуальных растений перца. Свежую растительную ткань в виде фрагмента проростка интенсивно гомогенизировали в пробирке типа Eppendorf объемом 1,5 мл при комнатной температуре в 400 мкл экстракционного буфера (200 мМ трис - HCl, pH 7,5; 250 мМ NaCl; 25 мМ EDTA; 0,5% SDS). Гомогенизацию заканчивали интенсивным встряхиванием на Vortex в течение 5 секунд.

Экстракция проводилась при 65°C в течение 15 мин., после чего добавляли по 200 мкл 5М ацетата калия (предварительно охлажденного), тщательно перемешивали и инкубировали на ледяной бане 10 минут.

После центрифугирования в течение 20 минут, в настольной центрифуге типа Eppendorf (16000g) осторожно отбирали 500 мкл супернатанта и переносили в новую пробирку, к которому затем добавляли 500 мкл смеси фенол: хлороформ (в объемном соотношении 1:1). Затем центрифугировали 4 минуты (16000g), отбирали водную фазу (стараясь не захватить интерфазу), добавляли 500 мкл изопропанола и оставляли при комнатной температуре на 3-5 минут.

Содержимое пробирки центрифугировали при комнатной температуре в течение 10 минут (16000g). Осадок промывали 70% этанолом (охлажденным при -20°C) и центрифугировали в течение 10 минут (16000g). Осадок просушивали и добавляли 20мкл стерильной дистиллированной воды.

Определение концентрации препаратов ДНК. В основе измерения концентрации и чистоты экстрагированной ДНК лежит способность молекул ДНК поглощать УФ с длиной волны 260 нм. Раствор ДНК помещают впроходящий УФ и по оптической плотности раствора определяют его концентрацию. Оптическая плотность (OD) равная 1 соответствует приблизительно 50 мкг/мл двухцепочечной ДНК.

Способность контаминантов (белки, фенолы и др.) ДНК раствора поглощать УФ с длиной волны 280 нм позволяет установить чистоту препарата ДНК путем определения соотношения оптической плотности при D260/D280. Чистые препараты ДНК имеют отношение D260/D280 равное 1.6-1,9. Если препарат содержит примеси белка и/или фенола, то D260/D280 значительно меньше этих значений.

Измерение экстрагированной ДНК сортов перца производилось с помощью Биофотометра (Bio Photometer Eppendorf). Предварительно концентрированная ДНК разводилась в mQ в соотношении 1:100 (по программе Dilution - Simpele 1/растворитель 100/ Enter – Blank – Sample)

Дополнительная оценка загрязненности и целостности ДНК производилась в 1% агарозном геле. В лунку наносили 1 мкл ДНК предварительно смешанный с буфером для нанесения (0.25% бромфеноловый синий, 40% сахара, 6 мМ ЭДТА).

**Проведение ПЦР реакции.** Принцип полимеразной цепной реакции заключается в том, что при определенных температурных и химических условиях два 20-25 олигонуклеотидных праймера отжигаются на гомологичных участках матричной ДНК, а специфический фермент ДНК-полимераза, используя концы праймеров в качестве своеобразной затравки, синтезирует фрагмент ДНК, располагающийся между этими двумя праймерами. Данная реакция повторяется 25-35 раз и в результате количество необходимого ДНК фрагмента с каждым циклом увеличивается в геометрической прогрессии.

Состав реакционной смеси для классической ПЦР содержит следующие компоненты: праймеры, ДНК-полимераза, реакционный буфер, диоксинуклеотидтрифосфаты, хлорид магния.

Праймеры представляют собой 18-28 оликонуклеотиды с содержанием G+C около 50-60%. Концентрация праймеров в PCR реакции может составлять от 0.1-0.5 мкМ.

Для амплификации ДНК фрагментов в PCR реакции используется специальный фермент - термостабильная Taq-ДНК-полимераза, концентрация которой может составлять от 2.5 ед до 5 ед на 100 мкл смеси для амплификации участка ДНК менее 10 kb (тыс. п.н.)

Используется стандартный 10x Tris-HCl буфер с pH около 8.0, который в реакционной смеси доводится до 1x концентрации. HCl может входить в состав буфера для облегчения отжига праймеров, но его концентрация не должна превышать 50 mM, так как это может ингибировать полимеразу.

Концентрация каждого из диоксинуклеотидтрифосфатов (dNTP: dATP, dGTP, dTTP, dCTP) в реакции должна находиться в пределах 0.1-0.25 mM.

Концентрация хлорида магния ( $MgCl_2$  0.5-2.5 мМ  $Mg^{2+}$ ) должна быть выше, чем концентрация dNTP на 0.5-2.5 мМ. Концентрацию ионов магния необходимо оптимизировать для каждого конкретного эксперимента.

Расчет температуры плавления и определение оптимальной температуры отжига праймеров в ПЦР. Температуры плавления праймера ( $T_m$ ) рассчитывалась по формуле  $T_m = 69.3 + 0.41(\%GC) - 650/L$  нуклеотидов, где L- длина праймера (число нуклеотидов) %GC – процент GC нуклеотидов от длины праймера.

**Методика проведения микросателлитного SSR-анализ.** Для цепной полимеразной реакции использовали наборы реактивов производства «Биомастер» и «Sigma». Амплификацию проводили в термоциклере «MJResearch P-150» (США) с предварительной денатурацией - 5 мин ( $94^\circ C$ ) в режиме: денатурация - 30 с. при  $94^\circ C$ ; отжиг праймера - 30 с. при ( $50-60^\circ$  в зависимости от состава и длины праймеров, см. расчет температуры плавления праймеров)  $37^\circ C$ ; синтез ДНК - 1 мин при  $72^\circ C$  с числом циклов - 36. Заключительную элонгацию PCR-фрагментов проводили 10 мин при  $72^\circ C$ . Продукты реакции амплификации разделяли электрофорезом в 1.7% агарозном геле в 1x TBE буфере, окрашивали бромистым этидием и фотодокументировали. В качестве маркера длины фрагментов ДНК использовали GeneRuler™100bp DNA Ladder Plus («Fermentas», Литва).

Также продукты реакции амплификации разделялись в 6% денатурирующем полиакриламидном геле и визуализировались посредством окрашивания геля нитратом серебра с использованием набора SILVERSEQUENCE™ DNA («Promega», США) согласно рекомендациям производителя.

Определение первичных ДНК последовательностей исследованных SSR локусов перца и оценка аллельного полиморфизма каждого микросателлита проводились методом прямого секвенирования амплифицированных ПЦР фрагментов на ABI 310 capillary DNA Analyzer (Центр «Биоинженерия», Москва).

Проведение электрофореза в агарозных гелях. Результаты амплификации проверяют путем электрофореза. 5 мкл ПЦР продукта разгоняют в 1.5% агарозном геле в 1x TBE (1x Трис-Боратном буфере) при 80-100 Вольт в течение 30-40 минут. Для оценки приблизительных размеров полученных фрагментов рекомендуется использовать маркер молекулярных масс - GeneRuler™100bp DNA Ladder Plus («Fermentas», Литва).

**Проведение электрофореза в полиакриламидных (ПАА) гелях.** Полученные ПЦР продукты амплификации разделяются в 6% денатурирующем ПААГ. Для эффективного разделения фрагментов в области от 50 до 300 п.н. использовались камеры Sequi-Gen GT Sequencing Cell «Bio-Rad» (США).

Для приготовления ПАА геля рекомендуется использовались реагенты «BiozymSequagel-6». Гель-электрофорез проводится в 1xTBE. Для камеры такого размера необходимо приготовить 2л 1xTBE, который непосредственно перед применением подогревается до  $50^\circ C$ .

## Приготовление стекол

1. Промыть стекла мылом, хорошо смыть. Протереть оба стекла с внутренней стороны 40% этиловым спиртом, затем 100% этиловым спиртом.
2. Короткое стекло протереть раствором *repel-silane* (Sigma, USA) (0.5 мл).
3. Длинное стекло протереть раствором *bind-silane* (Sigma, USA) (каждый раз делать новый: в 1 мл 3 мкл *bind-silane*+1мл 95% этанола + 0,5% уксусной кислоты).
4. 3-хкратно протереть стекла 100 % этанолом для удаления излишка *silanes* (особенно для *bind-silane*).
5. Сложить стекла (сэндвич). Положить на ровную поверхность.

### Таблица 1.2. Приготовление 6% акриламида

5xTBE	12мл
TEMED	50мкл
Акриламид (40%)	7,5 мл
Персульфат аммония (10%)	500 мкл
Мочевина	25,2 г
H <sub>2</sub> O	до конечной концентрации 60 мл

Гель, не давая ему заполимеризоваться, быстро заливается по всей поверхности между стеклами, пока он не выльется с другой стороны. Заливка геля производится на специальном наклонном столике, аккуратно, избегая образования пузырей. Вставляется гребенка. Гелю дают заполимеризоваться.

Удаляется гребенка. Из каждого образовавшегося кармана удаляется излишек мочевины путём промывания. Сэндвич вставляется в аппарат электрофореза, в каждый резервуар приливается по 1 литру TBE.

Нанесение ДНК проб в полиакриламидный (ПАА) гель. Электрофорез. Перед погружением полученных ПЦР продуктов в гель пробы смешиваются с равным объемом буфера для погружения (98% формамид, 0.25% бромфеноловый синий, 0.25% ксиленцианол и 10мМ ЭДТА). Вместе с буфером для погружения ПЦР пробы денатурируют в течении 4-5 мин при температуре 95°C и затем быстро охлаждают на льду.

После предфореза. Карман геля с помощью шприца или груши активно промывается буфером с целью удаления излишков мочевины. В карман вставляется пластиковая гребенка типа – «акульки зубы» и закрепляется зажимами. Пробы в объеме 2.2-2.8 мкл наносят в лунки гребенки.

Разделение амплифицированных фрагментов при установлении режима на 70 Вт на 30 минут, затем на 110 Вт на 2-3 часа. При достижении красителя нижней трети геля электрофорез останавливают. После окончания разобрать и охладить систему до комнатной температуры.

Для оценки размеров полученных фрагментов рекомендуется использовать маркер молекулярных масс - GeneRuler™50 bp DNA Ladder (“Fermentas”, США).

Визуализация спектров путем окрашивания геля нитратом серебра, его фиксация. Стекла осторожно разделяются (гель остается на стекле, смазанном *bind-silane*). Гель немедленно опускается в поднос с фиксирующим раствором



(2 литра 10% уксусной кислоты (200 мл уксусной кислоты + 1800 мл dH<sub>2</sub>O)). Ставится на шейкер на 30 минут (можно оставить на всю ночь). Затем 2хкратно в течение 5 минут отмывать дейонизированной воды (на шейкере).

После промывки гель перекладывается в окрашивающий раствор (в 2 литрах дейонизированной воды 2г AgNO<sub>3</sub> + 3 мл 37% формальдегид). Окрашивание всегда производится на шейкере в течение 30 минут.

Приготовление проявителя: в 2х литрах дейонизированной воды 6г Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, охладить до +4°C (не больше +10о С), чем холоднее раствор, тем медленнее будет идти проявка. Непосредственно перед проявкой добавить в раствор 3мл 37% формальдегида и 400 мкл тиосульфата натрия, размешать в течение 2 минут.

Подготавливаются 3 подноса (один поднос с дейонизированной воды). В два подноса наливается по 1 литру проявителя. Гель вынимается из красителя и опускается в поднос с водой на 2 минуты, затем его извлекают, дают стечь и переносят в поднос с проявителем, осторожно покачивая. Инкубируется до тех пор, пока ДНК фрагменты и маркер молекулярных масс не проявятся на геле (около 5 мин).

Реакция завершается добавлением фиксирующего раствора 10% уксусной кислоты непосредственно в проявитель, где находится гель. Инкубируется гель в течение 5 мин.

Гель промывается в 2 литрах дейонизированной воды в течение 5 минут и оставляется на ночь высыхать. Фотодокументируется гель с помощью цифровой камеры с использованием светового столика и штатива для камеры.

**Статистическая обработка SSR фрагментов, анализ полиморфизма.** Для оценки полиморфизма SSR локусов использовали коэффициент PIC (polymorphism information content):  $PIC = 1 - \sum p_i^2$ , где  $p_i$  – частота встречаемости  $i$ -го аллельного фенотипа в выборке. Выравнивание и анализ нуклеотидных последовательностей генома перца был проведен с использованием программ CLASTALX, версия 1.7 и MegAlign (DNA STAR, Inc.).

Генетические паспорта на основе микросателлитных локусов сортов и видов рода *Capsicum*.

Сорта и виды рода <i>Capsicum</i>	C 1a					C3						C5				C9a			
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	A	B	C	D
Размеры SSR фрагмента, п.н.	245	243	259	247	600	157	171	159	169	147	141	161	155	155	143	332	335	329	326
Линия К.Ч.		•						•				•				•			
Л-33			•				•					•				•			
Тип Spady	•						•					•				•			
Рубин	•							•					•			•			
Фестиваль	•					•						•				•			
Тип Маркони			•				•					•				•			
Чаймс		•					•					•				•			
Раиса				•		•						•						•	
Пурпурная красавица		•						•				•					•		
Тип Мазурка		•				•						•						•	
Оранжевое Чудо		•					•					•					•		
Тип Pirati		•					•					•						•	
Тип Memphis		•						•				•					•		
RS 87001		•					•					•					•		
Гибрид 167	•						•					•				•			
Болеро	•						•					•				•			
Шарм			•					•				•				•			
Шрегеда		•				•						•				•			
Бенда		•					•					•				•			
Медаль				•		•						•						•	
Екатерина	•					•								•			•		
Белоснежка	•							•					•			•			
Мария		•				•								•		•			

Сорта и виды рода <i> Capsicum</i>	C 1a					C3						C5				C9a			
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	A	B	C	D
Размеры SSR фрагмента, п.н.	245	243	259	247	600	157	171	159	169	147	141	161	155	155	143	332	335	329	326
Желтый букет		•				•						•					•		
Ежик	•								•				•			•			
Маяк	•							•					•			•			
Каскад	•					•								•					•
Золотой Дождь	•					•						•				•			
Хризолит	•						•					•				•			
Очарование	•							•					•			•			
Карлик	•					•								•		•			
Сибиряк		•					•					•					•		
Малыш	•							•					•			•			
Руза	•					•							•			•			
Ария		•					•					•					•		
Изабелла		•						•					•				•		
Златозар	•					•						•				•			
Линия 71		•				•							•			•			
Сирень	•						•					•				•			
Агаповский		•					•							•		•			
Здоровье			•			•							•			•			
Отелло	•					•							•			•			
Родник		•						•					•			•			
Нежность	•					•							•			•			
Сиреневый туман		•				•						•				•			
<i>C.frutescens</i>	не опр					•									•	не опр			
<i>C.chinense</i>					•					•			•			не опр			
<i>C.baccatum</i>	не опр										•		•			не опр			

## Лук

№	Сорт/образец	Окраска луковицы	Форма луковицы
<i>Allium cepa</i> L.			
1	Азелрос №354	Желтая	Округлая
2	Глобус 508x553	Желтая	Округлая
3	Колобок Ag x 236	Желтая	Округлая
4	Стригуновский №236	Желтая	Округлая
5	Атас №602	Желтая	Удлиненная
6	Ботерус J <sub>3</sub> /94	Желтая	Округло-плоская
7	Альвина №301	Фиолетовая	Плоская
8	Красавец №512	Фиолетовая	Округлая
9	Черный принц 543 x 550	Фиолетовая	Округлая
10	Красное кружево №717	Красная	Округлая
11	Soluthford red globe №900	Красная	Округлая
12	Ранний розовый №355	Розовая	Округлая
13	Розарио 359 x 235	Розовая	Округлая
14	Розалинда №945	Розовая	Округлая
15	Альба №1121	Белая	Округлая
16	Ейск №7019	Белая	Округлая

**Выделение ДНК.** При работе с большим количеством образцов выделение ДНК проводили с использованием набора реагентов «Сорб-ГМО-Б» («Синтол», Россия) основанном на СТАВ методе, куда входят все основные компоненты для выделения согласно прилагаемому протоколу.

Конечную чистоту и концентрацию тотальной ДНК определяли в спектрофотометре Smart Spec Plus (BioRad, USA). Собираются данные абсорбции при 260 nm и 280 nm для вычисления концентрации выделенной ДНК. Соотношение A<sub>260</sub> к A<sub>280</sub> определяет чистоту выделенной ДНК, так чистый образец ДНК должен иметь показание около 1.8. На примере выделения ДНК из образцов видов и сортов лука показана первичная пробоподготовка для проведения анализа ДНК с использованием ПЦР метода.

После выделение раствор ДНК разбавляется до нужной концентрации (от 60 до 150 µg/ml) и хранится в холодильнике для непосредственной работы при +2<sup>0</sup>С; для длительного хранения и последующего анализа при -20<sup>0</sup>С.

### Пробоподготовка образцов лука для проведения ПЦР

Образец	Концентрация $\mu\text{g/ml}$	Соотношение A260/A280
Азелрос	128	1.87
Глобус	92	1.7
Колобок	79	1.8
Стригуновский	116	1.9
Атас	137	1.8
Ботерус	149	1.83
Альвина	86.4	1.8
Красавец	99	1.84
Черный принц	70	1.75
Красное кружево	82	1.85
Sohuthfort red globe	49	1.8
Ранний розовый	86	1.82
Розарио	119	1.8
Розалинда	64	1.8
Альба	284	1.3
Ейск	77	1.8

**SSR анализ.** SSR локусы были взяты из международной базы данных NCBI [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/>] с учетом нуклеотидного состава SSR локусов и количества аллелей, которые выявляет каждый маркер. В исследовании было использовано 8 микросателлитных маркера для генетической идентификации сортов лука (таблица 4).

Базовую постановку ПЦР проводили в объеме 25  $\mu\text{l}$ , включая 1 $\times$  ПЦР буфер Б, 2,5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0,25 mM каждого dNTP, 0,3  $\mu\text{M}$  каждого праймера, 1,5 единиц Taq ДНК-полимеразы («Синтол», Россия) и 3  $\mu\text{l}$  ДНК каждого исследуемого растительного образца.

Для проведения амплификации используют два прибора: BioRad C1000 Touch и My cycler («BioRad», США). Базовый протокол амплификации состоит из шага денатурации 2-5 мин. при 92-95 $^{\circ}\text{C}$ ; шага отжига 30 сек при температуре от 52 $^{\circ}\text{C}$  до 58 $^{\circ}\text{C}$  (в зависимости от пары праймеров); шага элонгации 30 сек – 1 мин. при 72 $^{\circ}\text{C}$ . Программа рассчитана на 35 циклов амплификации.

**Анализ ПЦР продуктов.** Полученные продукты амплификации разгоняли методом вертикального электрофореза с использованием системы Sequi-Gen GT («BioRad», США) в 6% полиакриламидном секвенирующем геле при напряжении 1600 вольт и продолжительности 1.5-2 часа.

После электрофореза гели подвергали окрашиванию раствором бромистого этидия, и затем документировали с использованием системы «ChemIDoc XRS+» («BioRad», США) Размеры амплифицированных фрагментов определяли в сравнении с маркером молекулярных масс GeneRuler100 bp plus DNA ladder «Thermo scientific». Полученные цифровые фотографии продуктов амплификации анализируют с использованием программы Image Lab 3.0 («BioRad», США).

**Математическая обработка данных.** Для анализа ДНК – спектров каждому компоненту присваивали соответствующий порядковый номер, а затем данные переводили в бинарный вид, то есть присутствие и отсутствие компонента в спектре кодировали соответственно цифрами 1 или 0. В качестве критерия парного сходства был выбран коэффициент Жаккарда (Jaccard coefficient 1908). Также был использован метод главных компонент. Значение и величиной информационного полиморфизма (polymorphism information content, PIC) для каждого праймера было посчитано согласно А.Кumar и др. 2014.

Генетические паспорта на основе сателлитных локусов сортов и видов рода *Allium*.

Локусы сателлита в	АСМ 094		АСМ132			АСМ091						АСМ004				АСМ024						АСМ 018		АСМ101			АСМ187				
	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	4	4	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3	3
Сорта лука репчатого	1	1	0	5	8	0	8	8	9	0	2	0	5	5	0	1	2	2	3	3	5	6	7	7	0	1	2	2	3	0	2
Азелрос		•		•	•			•					•	•	•			•				•	•	•		•	•	•	•		•
Глобус		•		•	•		•	•		•			•	•	•			•				•	•	•		•	•	•	•		•
Колобок	•	•		•	•		•	•	•	•		•	•	•	•			•				•	•	•		•	•	•	•		•
Стригуновский	•	•	•	•	•		•		•	•		•	•	•	•	•		•				•	•	•		•	•	•	•		•
Атас	•	•		•	•		•		•	•		•	•		•	•		•				•	•	•		•	•	•	•		•
Ботерус		•	•	•	•		•	•		•			•	•				•				•	•	•		•	•	•	•	•	•
Альвина	•	•	•	•	•		•	•		•			•	•				•				•	•			•	•	•	•		•
Красавец	•	•		•	•		•		•	•			•	•					•	•	•	•	•			•		•	•		•
Черный принц	•	•		•	•		•			•			•	•				•				•	•	•		•	•	•			•
Красное кружево	•	•	•	•	•		•	•		•			•	•	•			•				•	•			•	•	•			•
Schuthfort red globe		•		•	•		•			•			•	•			•					•	•			•		•	•		•
Ранний розовый		•		•	•			•	•	•			•	•	•			•				•	•	•		•	•	•	•		•
Розарио		•		•	•		•			•	•	•	•	•				•				•	•			•		•	•		•
Розалинда		•		•	•		•	•		•			•	•	•					•	•	•	•			•	•	•	•		•
Альба	•	•	•	•	•			•	•	•			•	•	•			•				•	•	•		•		•	•		•
Ейск	•	•	•	•	•		•		•	•			•	•	•			•				•	•	•		•	•	•			•

