

ФГБНУ ВНИИСПК	
СОП №11 от 27.09.2017 г.	Стандартная операционная процедура СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА И ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ГЕНОТИПАХ ПЛОДОВЫХ И ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА И ЗАСУХИ.
Цель СОП	Определить устойчивость к летним стресс-факторам
Разработчик	Прудников П.С.
Рабочее место:	Лаборатория физиологии устойчивости плодовых растений
Утверждено:	ФАНО России
Разработано на основании:	

№	Визуально	Описание операции	Время выполнения	Используемые материалы и приборы
1.		Отобрать листья в насаждениях коллекции	0,1 мин	Халат х/б рабочий
2.		Вложить листья в полиэтиленовый пакет	0,1 мин	Полиэтиленовый (пищевой) пакет, халат х/б рабочий
3.		Этикетировать полиэтиленовый пакет в саду	0,1 мин	Этикетка картонная, ручка шариковая, халат х/б рабочий
4.		В лаборатории разделить листья на три части для вариантов: контроль, высокотемпературный стресс, засуха	0,5 мин	Лабораторный халат
5.		Промаркировать химические стаканы в соответствии с вариантами: контроль, высокотемпературный стресс, засуха	0,05 мин	Химические стаканы, маркер
6.		В стаканы для контроля и моделирования высокотемпературного стресса налить 10 мл дистиллированной воды. Стакан для засухи оставить без воды.	2 мин	Химические стаканы, Дозатор пипеточный, наконечник для дозатора, вода дистиллированная
7.		Разместить листья в промаркированные стаканы	0,05 мин	Химические стаканы
8.		Разместить стаканы с листьями в термостат. Контроль оставить в нормальных условиях	0,05 мин	Термостат суховоздушный
9.		Извлечь стаканы из термостата через 1 час	0,05 мин	

10.		Измельчить листья в соответствии с вариантами: контроль, засуха, высокотемпературный стресс	1 мин	Ножницы канцелярские
11.		Взвесить 3 навески по 0,5 г измельченных листьев соответствующих вариантов для определения пролина	2 мин	Весы электронные
12.		Промаркировать три пробирки для центрифугирования в соответствии с вариантами	0,03 мин	Маркер, пробирки для центрифугирования
13.		Навески измельченных листьев для определения пролина поместить в пробирки для центрифугирования	1 мин	Пробирки для центрифугирования
14.		В пробирки добавить по 10 мл дистиллированной воды	1 мин	Дозатор пипеточный 1-10мл, наконечники для дозатора на 10 мл, дистиллированная вода
15.		Пробирки с содержимым поместить на водяную баню	0,2 мин	Плитка электрическая, емкость для кипячения
16.		Через 10 мин извлечь пробирки для центрифугирования из водяной бани	0,2 мин	
17.		Поместить пробирки в центрифугу	0,05 мин	Центрифуга
18.		Включить центрифугирование	0,01 мин	
19.		Извлечь пробирки из центрифуги	0,05 мин	
20.		Промаркировать три химические пробирки в соответствии с вариантами	0,03 мин	Маркер, химические пробирки
21.		Отобрать по 2 мл из каждой центрифужной пробирки супернатанта в соответствующие вариантам химические пробирки	0,3 мин	Химическая пробирка, дозатор пипеточный 1-10мл, наконечник для дозатора
22.		Добавить в пробирки по 2 мл ледяной уксусной кислоты	0,6 мин	Ледяная уксусная кислота, дозатор пипеточный 1-10 мл,

				наконечники для дозатора
23.		Добавить в пробирки по 2 мл раствора нингидрина	0,6 мин	Раствор нингидрина (нингидрин, ортофосфорная кислота, ледяная уксусная кислота), дозатор пипеточный 1-10 мл
24.		Поместить пробирки на водяную баню	0,3 мин	Плитка электрическая, емкость для кипячения
25.		Извлечь пробирки из водяной бани	0,3 мин	
26.		Измерить оптическую плотность содержимого пробирок после охлаждения	2 мин	Спектрофотометр
27.		Записать полученные данные	1 мин	Книга учета, шариковая ручка, карандаш простой
28.		Взвесить 3 навески по 0,5 г измельченных листьев соответствующих вариантов для определения МДА	2 мин	Весы электронные
29.		Навески измельченных листьев для определения МДА поместить в ступки	0,2 мин	Ступки
30.		Добавить в ступки по 1 мл ТрисНСI буфера	0,4 мин	ТрисНСI буфер рН 8,0 (трис, соляная кислота), дозатор пипеточный 0,1-1мл, наконечник для дозатора
31.		Добавить в ступки по 10 мл 0,35 М раствора NaCl	0,5 мин	0,35 М раствор NaCl, дозатор пипеточный 1-10мл, наконечник для дозатора
32.		Гомогенизировать навески измельченных листьев с помощью пестика	6 мин	Лабораторная ступка, пестик
33.		Промаркировать три пробирки для центрифугирования в соответствии с вариантами: контроль, засуха, высокотемпературный стресс	0,03 мин	Маркер, пробирки для центрифугирования
34.		Перелить гомогенаты в соответствующие пробирки для центрифугирования	0,2 мин	Пробирка для центрифугирования
35.		Поместить пробирки в центрифугу	0,05 мин	Центрифуга лабораторная

36.		Включить центрифугирование	0,01 мин	
37.		Извлечь пробирки из центрифуги	0,05 мин	
38.		Промаркировать три химические пробирки в соответствии с вариантами	0,03 мин	Маркер, пробирки химические
39.		Отобрать по 3 мл супернатанта из пробирок для центрифугирования в химические пробирки для определения количества МДА	0,6 мин	Дозатор пипеточный 1-10мл, наконечник для дозатора, химическая пробирка
40.		К 3 мл супернатанта добавить по 2мл 0,5% раствора ТБК в 20% растворе ТХУ	0,6 мин	0,5% тиобарбитуровая кислота, растворенная в 20% растворе трихлоруксусной кислоты, дозатор пипеточный, наконечник для дозатора
41.		Поместить химические пробирки на водяную баню	0,6 мин	Плитка электрическая, емкость для кипячения
42.		Через 1 час снять пробирки с водяной бани	0,6 мин	
43.		Содержимое пробирки отфильтровать	1 мин	Бумага фильтровальная, стеклянные воронки, пробирки
44.		Измерить оптические плотности растворов после фильтрации	6 мин	Спектрофотометр
45.		Записать полученные данные	1 мин	Книга учета, шариковая ручка, карандаш простой
46.		Математическая обработка и распечатка результатов исследования	10 мин	Персональный компьютер, принтер, программа для статистической обработки данных, бумага А4, скрепки канцелярские, степлер, скобы для степлера

Суммарная длительность СОП для анализа 1 образца: 43,54 мин

Квалификация сотрудника:

На этапе: 1-27 младший научный сотрудник (13,67 мин);
28-46 Старший научный сотрудник (29,87 мин)

Оборудование

Наименование	Типовая модель	Производитель	Каталожный номер (web-адрес)
Персональный		Китай	

компьютер			
Центрифуга	Jouan MR 1812	Франция	
Весы электронные	OHAUS STX222	Китай	
Спектрофотометр	BioRad SmartSpec Plus	США	
Дистиллятор	Liston A1210	Россия	
Дозатор пипеточный Лайт, 0,1-1мл	Ленпипет	Россия	
Дозатор пипеточный Лайт, 1-10мл	Ленпипет	Россия	
Суховоздушный термостат	Binder BD53	Германия	

Компьютерная программа:

Название (версия)	Web-ссылка на платную версию	Бесплатный аналог (если есть), ссылка
Дисперсия 1-2-3		

Расходные материалы и личные средства защиты

Наименование	Много- /одноразовый	Производитель	Каталожный номер (web- адрес)
Шариковая ручка	Многоразовый	Любой	
Стержень для шариковой ручки	Многоразовый	Любой	
Бумага А4	Одноразовый	Любой	
Книга учета	Многоразовый	Любой	
Карандаш простой	Многоразовый	Любой	
Канцелярский нож	Многоразовый	Любой	
Халат лабораторный	Многоразовый	Любой	
Химические стаканы, 100мл	Многоразовый	Любой	
Ножницы канцелярские	Многоразовый	Любой	
Маркер	Многоразовый	Любой	
Ледяная уксусная кислота	Одноразовый	Любой	
Ортофосфорная кислота	Одноразовый	Любой	
Нингидрин	Одноразовый	Любой	
Соляная кислота	Одноразовый	Любой	
Трис	Одноразовый	Любой	
Трихлоруксусная кислота	Одноразовый	Любой	
Тиобарбитуровая кислота	Одноразовый	Любой	
Хлористый натрий	Одноразовый	Любой	
Пробирки стеклянные, 20мл	Многоразовый	Любой	
Пробирки центрифужные, 10мл	Одноразовый	Любой	
Наконечники для дозаторов, 10 мл	Одноразовый	Любой	
Фильтры обеззоленные ФБ, 150мм	Одноразовый	Любой	
Наконечники для дозаторов, 1 мл	Одноразовый	Любой	