



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

TENTO PROJEKT JE SPOLUFINANCOVÁN EVROPSKÝM SOCIÁLNÍM FONDEM
A STÁTNÍM ROZPOČTEM ČESKÉ REPUBLIKY

Jméno:

Datum:

Téma 07: Izolace stonkových axilárních meristémů

Izolace meristémů se provádějí především při ozdravování rostlin od virových infekcí, protože koncentrace virů v rychle rostoucích pletivech je nižší než v diferencovaných orgánech. Kultury izolovaných meristémů pak lze navíc podrobit termoterapii. Dalším možným využitím izolovaných meristémů je mikropropagace.

Materiál: *in vitro* kultura tyrolského hvozdíku *Dianthus* sp.

Médium:

Kontrola: MS základní soli, vitamíny B5, sacharóza 20 g.l⁻¹, agar 8 g.l⁻¹, pH 5,5

F1 médium: : MS základní soli, vitamíny B5, sacharóza 20 g.l⁻¹, agar 8 g.l⁻¹, pH 5,5 s přísadkou auxinu a cytokininu (NAA, BAP)

Pomůcky: preparační mikroskop, ...

Postup práce:

1. Kultivační nádoby s kulturami hvozdíku přeneseme z kultivační místnosti do laminárního boxu.
2. Připravíme si kultivační nádoby s čerstvým médiem a ostatní pomůcky.
3. Opatrně ožiháme okraj kultivační nádoby a otevřeme ji.
4. Sterilní pinzetou vyjmeme prýty na sterilní Petriho misku.
5. Oddělené **apikální části** prýtů s 2 nody vsadíme do čerstvého média (udržovací kultura).
6. Opatrně ožiháme okraj kultivační nádoby a uzavřeme ji kovovým uzávěrem s ventilací a popíšeme.
7. **Bazální část** prýtu použijeme pro izolaci axilárních meristémů. Rozdělíme si jej na jednodálňní segmenty. Listy odtrhneme tahem směrem shora dolů a v jejich úžlabí najdeme axilární meristém, který odpreparujeme dvěma řezy vedenými kolem meristému abaxiálně a adaxiálně. Všimněte si velikostí axilárních meristémů na stonku.

8. Izolovaný meristém inokulujeme do MS nebo 1F média.
9. Zapišeme datum a číslo kultury.
10. Kultivujeme v kultivační místnosti na světle (bílé zářivky, fotoperioda 16/8, PAR 30 – 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$) při 22°C.

Hodnocení

V následujících týdnech kontrolujeme čistotu kultur a vývoj izolovaných meristémů. Pokud použijeme médium s přísadkou cytokininu a auxinu, lze odvodit kulturu mnohonásobných prýtů.

Popište o jaký druh regeneračního procesu se jedná.

Literatura:

Crouch N.R. and van Staden J. (1993): In vitro culture of *Dianthus zeyheri* subsp. *natalensis*, a South African carnation. - Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 35:81-85.

Kováč J. (1992): Explantátové kultury rostlin. – Skriptum Pedagogická fakulta UJEP, Ústí nad Labem.

Kováč J. (1992): The use of micropropagation in the protection of genofond of *Dianthus arenarius* subsp. *bohemicus*. - Biol. Plant. 34 (Suppl.):543.

Kozai T., Kubota C. & Watanabe I. (1988): Effects of basal medium composition on the growth of carnation plantlets in auto and mixotrophic tissue culture. - Acta Hortic. 230:159-166.

Murashige T. & Skoog F. (1962): A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. - Physiol Plant. 15:473-497.

Pierik R.L.M. (1987): Vegetative propagation. – In: Chap. 20, In Vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers, 183-230.