

DATUM:

JMÉNO:

TÉMA: **Mikrotuberizace v bioreaktorech RITA®**

Metoda mikrotuberizace je využívána při množení, skladování a distribuci šlechtitelského materiálu vegetativně rozmnožovaných rostlin. Bramborové hlízky se v podmínkách *in vitro* vytvářejí z axilárních meristémů prýtu. Mikrohlízky jsou modifikované stonky, které na apexu obsahují množství dormantních meristémů ("bramborová očka"). Dormanci lze přerušit skladováním mikrohlízek při nižších teplotách po dobu několika týdnů.

MATERIÁL: kultura prýtů brambor různých kultivarů

MÉDIUM tekuté M-S medium, sacharosa 80 g.l⁻¹, pH 5,7 (MS-8)

tekuté M-S médium, sacharosa 20 g.l⁻¹, pH 5,7 (MS-1)

polotekuté M-S médium, sacharosa 20 g.l⁻¹, pH 5,7, Plant agar 0,55% (MS)

POSTUP:

1. Přenes kultury brambor z kultivační místnosti do sterilního laminárního flowboxu.
2. Připrav sterilní nádoby RITA® s čerstvým médiem (MS-1, MS-8).
3. Kultivační nádoby otevři a ožehni hrdlo nádob plamenem.
4. Přenes sterilně pinzetou prýty brambor do sterilní Petriho misky.
5. Odřízni vrcholovou část prýtů (2 cm) s neporušeným vrcholovým meristémem a inokuluj je do udržovacího polotekutého MS média pro další kultivaci.
6. Zbylou část prýtů rozděl na jednonodální segmenty a přenes je na síťku RITA® bioreaktoru se 170 ml MS-8 média, pro srovnání připrav do druhého RITA® bioreaktoru stejnou kulturu, která bude omývána MS-1 médiem a část segmentů přenes na agarové médium do Petriho misky.
7. Opatrně uzavři kultivační nádoby a popiš jednotlivé varianty.
8. Kultivuj v kultivační místnosti na světle (bílé zářivky, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$, **krátký den** fotoperioda 8 hod/16 hod tma) při 21°C po 2 - 4 týdnů.

HODNOCENÍ

V průběhu kultivace kontroluj kontaminace kultur. Zaznamenej počet mikrohlízek u každého kultivaru. Vyhodnot' rozdíly mezi kultivary ve velikosti a zbarvení mikrohlízek.

Všimni si rozdílů při tvorbě mikrohlízek v závislosti na koncentraci sacharosy a vysvětli jejich podstatu. Srovnej tvorbu mikrohlízek u stejných kultivarů v tekutém médiu a na agaru.

LITERATURA:

1. McCown, B.H. and P.J.Joyce. 1991 Automated propagation of microtubers of potato. In: I.K.Vasil /Ed./, *Scale – Up and Automation in Plant Propagation*, pp.95 – 109. Academic Press, San Diego.
2. Jackson S.D. (1999): Multiple Signaling Pathways Control Tuber Induction in Potato. – *Plant Physiol.*, **119**: 1-8.