

DATUM:

JMÉNO:

TÉMA:

Indukce mikrotuberizace

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: *in vitro* kultura prýtů brambor různých kultivarů

MÉDIUM **MS-8**: indukční médium = M-S soli, vitamíny B5, sacharosa 80 g.l⁻¹, 0,65% agar, pH 5,7

MS-1: udržovací médium = M-S soli, vitamíny B5, sacharosa 20 g.l⁻¹, 0,65% agar, pH 5,7

POSTUP:

1. Přenes kultury brambor z kultivační místnosti do sterilního laminárního flowboxu.
2. Připrav sterilní nástroje a kultivační nádoby s čerstvým médiem (M-S, MS-8).
3. Kultivační nádoby otevři a ožehni hrdlo nádob plamenem.
4. Přenes kultury do sterilní Petri misky.
5. Odřízni vrcholovou část prýtu (2 cm) s neporušeným vrcholovým meristémem a inokuluj ji do udržovacího MS-1 média pro další kultivaci.
6. Zbylou část prýtu rozděl na jednonodální segmenty a podle pořadí na prýtu je inokuluj do MS-8 média.
7. Opatrně ožehni hrdlo otevřené kultivační láhve, uzavři a popiš.
8. Stejným způsobem založ kontrolní kulturu jednonodálních segmentů na MS-1 médiu.
9. Kultivuj v kultivační místnosti na světle (bílé zářivky, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$, **krátký den** fotoperioda 8 hod/16 hod tma) při 21°C po 2 - 4 týdnů.

HODNOCENÍ

V průběhu kultivace kontroluj kontaminace kultur.

Všimni si rozdílů při tvorbě mikrohlízek v závislosti na poloze nodálního segmentu na prýtu (topofýza) a vysvětli jejich podstatu.

Zaznamenej tvorbu mikrohlízek na jednotlivých médiích a počet mikrohlízek u každého kultivaru. Vyhodnot' rozdíly mezi kultivary ve velikosti a zbarvení mikrohlízek.

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.