

DATUM:

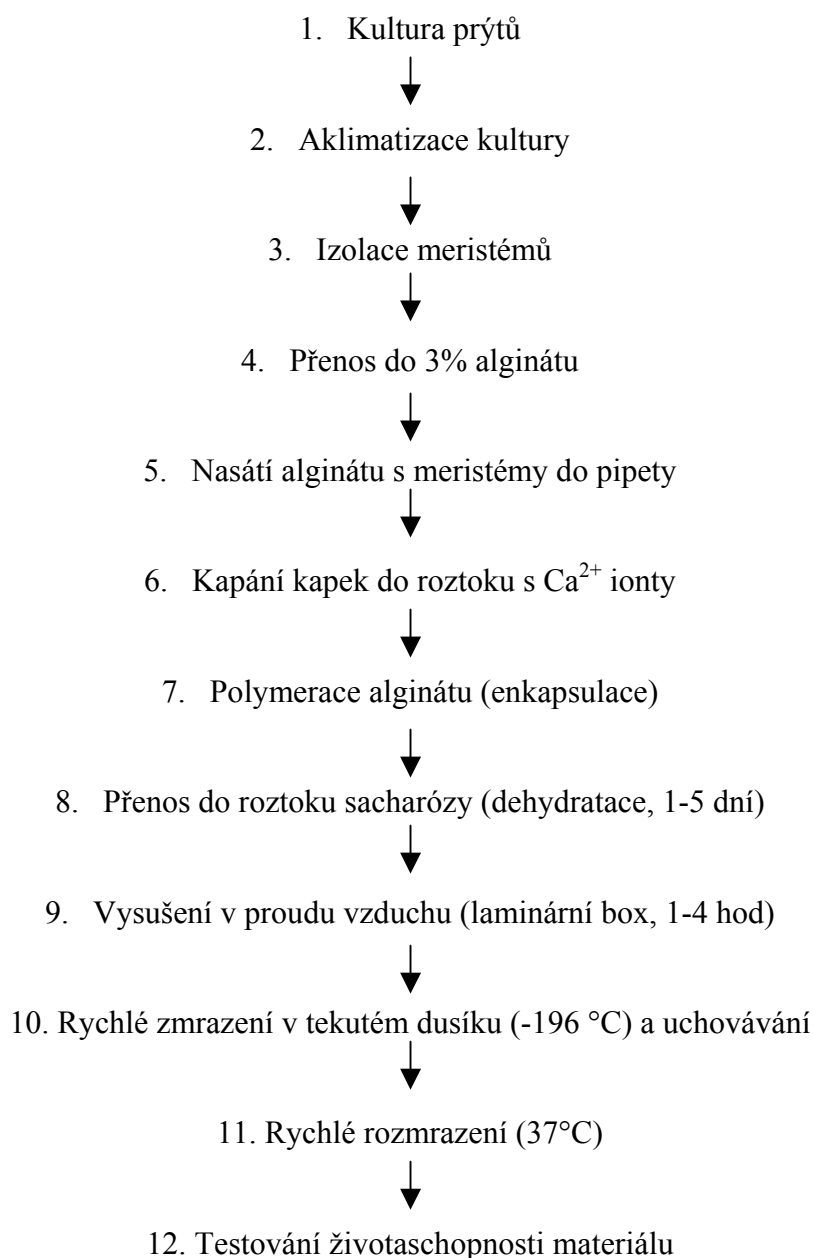
JMÉNO:

TÉMA:

Kryoprezervace

Kryoprezervace je neletální skladování pletiv při ultranízkých teplotách. Využívá se pro minimalizace růstu a vývoje *in vitro*, uchování životaschopnosti a genetické stability šlechtitelských materiálů, zachování plného vývojového a funkčního potenciálu i pro šetření pracnosti manipulací. Jednou z metod, jak zabránit poškození pletiv vlivem nízkých teplot je postup, který používá v prvním kroku obalení pletiva ochrannou vrstvou (enkapsulace) a v druhém kroku odvodnění (dehydrataci) (Benson 1993). K enkapsulaci se používá alginát sodný. Lze enkapsulovat izolované meristémy, kalusy, suspenzní kultury apod.

Obecný postup při enkapsulaci/dehydrataci (Benson 1993)



ÚKOL: Testování vlivu izolace a enkapsulace na životaschopnost meristémů
Solanum tuberosum

Při používání metody kryoprezervace je nutno pro každý rostlinný materiál otestovat jednotlivé kroky, aby bylo jisté, zda některý z nich nezpůsobuje ztrátu životaschopnosti materiálu.

MATERIÁL:

Kultura prýtů *Solanum tuberosum*, 3% alginát sodný v médiu bez Ca^{2+} iontů, 0,1M CaCl_2 , Petriho misky s navlhčeným filtračním papírem, skalpel a pinzeta, kahan, laminární box, automatická pipeta, sterilní modré špičky se seříznutou špičkou.

POSTUP:

(body 3. – 7. z výše uvedeného pracovního schématu)

1. Z prýtů sterilní kultury *Solanum tuberosum* izolujte na navlhčeném filtračním papíru s použitím preparačního mikroskopu apikální a axilární meristémy.
2. Izolované meristémy vložte do roztoku alginátu sodného.
3. Pipetou se seříznutou modrou špičkou nasajte alginát s meristémy.
4. Pipetou postavenou kolmo těsně nad hladinou roztoku CaCl_2 pomalu odkapávejte alginát do roztoku, tak aby se vytvářely kapky s centrálně umístěným meristémem.
5. Ponechte kapky 30 minut polymerizovat v roztoku CaCl_2 .
6. Vytvořené kuličky alginátu obalující meristém přeneste na povrch M-S media.

HODNOCENÍ:

V následujících týdnech popište růst meristému a vyhodnoťte, zda postup izolace meristému a jeho enkapsulace v alginátu neovlivnil životaschopnost meristému.

LITERATURA:

Benson E. E. Cryopreservation. In: Dixon R.A. et Gonzales R.A. (Eds.): Plant Cell Culture: A Practical Approach. - ILR Press, Oxford University Press, 1993.
Kováč J. (1995): Využití kultur *in vitro* k uchování genových zdrojů rostlin. – Zahradnictví, 22: 143 – 148.