Bi6120c Rostlinné explantáty
Sylabus cvičení s vyznačenými inovacemi
Pro školní rok 2009-2010, jarní semestr

Tučně jsou vyznačeny inovace programu praktika

01. Úvod do praktika: podmínky axenické kultury a požadavky na vybavení laboratoře, typy kultur, kultivační nádoby a různé způsoby kultivace, **seznámení s kultivačním systémem RITA®**, bezpečnost a organizace práce, protokoly, literatura.

02. Nácvik práce ve sterilních podmínkách: sterilizace nástrojů, vody, nádob, živných médií, pracovního prostoru, metody povrchové desinfekce semen, sterilní výsev semen, spor kapradin apod. (*Nicotiana, Daucus, Drosera, Linum*).

03. Příprava živného média: různé varianty **tekutého** a agarem ztuženého média (MURASHIGE – SKOOG 1962, GAMBORG a kol. 1968, atd.), příprava a rozlití do kultivačních nádob.

04. Nácvik práce ve sterilních podmínkách: pasážování (přesazování explantátů do čerstvého média) sterilních kultur (*Drosera, Dionaea, Saintpaulia, Streptocarpus, Nephrolepis*).

05. Mikropropagace: Odvození primární kultury bylin, různé zdroje explantátů - list, stonek, rhizom , regenerace *de novo: Saintpaulia, Streptocarpus, Begonia, Nephrolepis*, reprodukce: množení nodálními segmenty (*Rosa*), **srovnání multiplikačního koeficientu a vitrifikace na agarem ztužené půdě a v kultivačním systému RITA®, porovnání kultivačních podmínek za různých režimů osvětlení (PAR, teplota) v obou kultivačních systémech.**

06. Kalusové kultury: a) iniciace kalogeneze- založení primární kultury kambiálních segmentů kořene (*Daucus*), **založení kalusové kultury *(Ajuga reptans)*.** b) Vliv různého poměru auxinových a cytokininových růstových regulátorů na organogenezi na segmentech hypokotylu tabáku (*Nicotiana tabacum*).

07. Meristémové kultury: a) Izolace apikálních a axilárních meristémů bylin a dřevin (*Dianthus, Clematis, Rubus*); indukce tuberizace na nodálních segmentech (*Solanum tuberosum*); b) převod rostlin do nesterilních podmínek, aklimatizace (*Saintpaulia, Streptocarpus, Nephrolepis, Drosera, Dionaea)*. **Detekce stresu v průběhu aklimatizace rostlin fluorometrickými metodami.**

08. Izolace zygotických embryí: založení kultury – desinfekce semen, izolace embryí a jejich inokulace do živného média (*Picea, Zea*, *Capsella*). Kultury nižších rostlin: kultivace dřevokazných hub (*Pleurotus ostreatus, Lentinus tigrinus*)– udržovací kultury a příprava očkovacího inokula jako příklad suspenzní kultury.

09. Somatická embryogeneze: indukce přímá – apikální meristémy hrachu (*Pisum*), poupata úborů cinerárie (= popelivky) (*Senecio cruentus* – hybrid), nepřímá indukce – kalus mrkve (*Daucus carota*), **srovnání produkce somatických embryí na agarem ztužené půdě a v kultivačním systému RITA®.**

10. Indukce haploidních rostlin: Založení prašníkové kultury, srovnání regenerační kapacity různých linií tabáku (*Nicotiana*). Fytopatologie *in vitro*: certifikace čistoty kultur, test čistoty kultury *Solanum tuberosum a Nicotiana tabacum.*

11. Kryoprezervace: izolace axilárních meristémů, enkapsulace meristémů do alginátu, dehydratace alginátových perel a jejich následné rychlé zmrazování v N_2.

12. **Zavedení úlohy: Produkce sekundárních metabolitů v kalusových a orgánových kulturách *Ajuga reptans, Drosera capillaris, D. rotundifolia, Echinacea purpurea* a srovnání vlivu kultivačních podmínek na produkci antokyanů a naftochinonu derivátů kyseliny kávové v systému RITA® a při kultivaci na agarem ztuženém médiu.**

13. Exkurze do Laboratoře rostlinných explantátů Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně.

14. Kontrola protokolů a zápočet.