

Datum:

Téma: **Sterilní výsev a nakličování semen**

Materiál:

semena různých linií tabáku *Nicotiana tabacum* L. SR1, *Nicotiana tabacum* cv. Xantha, len setý *Linum usitatissimum* L., nažky mrkve seté *Caucus carota* L. ssp. *sativus* (Hoffm.) Arcang. cv. Karotela, cv. Nanteská, apod.

Pomůcky:

Postup práce:

Desinfekce semen

1. Uzavření semen do skleněné epruvety nebo gázového váčku (podle velikosti semen)
2. Desinfekce v 50% etanolu a 3% peroxidu vodíku 1 minuta
3. Oplach sterilní destilovanou vodou (SDV)
4. Desinfekce ve 20% roztoku SAVO v SDV (v/v) 20 minut
5. 3x po dobu 3 - 5 minut oplach SDV, poslední vodu slít a nechat uzavřeno v boxu
6. Botnání 24 hodin
7. Opakovaná desinfekce ve 20% roztoku SAVO v SDV (v/v) 20 minut
8. 3x po dobu 3 - 5 minut oplach SDV
9. Desinfikovaná semena přeneseme v laminárním boxu do sterilní Petriho misky s filtračním papírem.

Sterilní výsev

10. Provedeme sterilně výsev semen do Petriho misek na povrch agarem ztuženého média (MS médium, 2% sacharosa, 0,65% agar). Víko misky zajistíme proti otevření proužkem fólie.
11. Označíme kultury popisem (datum, materiál), poznamenejeme si počet semen vysetých na misku.
12. Nakličování provádíme ve tmě v termostatu při teplotě 25°C nebo na světle v kultivačním regálu.

Hodnocení:

První kontrola kultur by měla probíhat již po několika dnech, zpravidla již 3. den od počátku experimentu je patrná přítomnost nežádoucích infekcí.

V následujících týdnech vyhodnotíme % klíčivosti osiva, kontrolujeme čistotu kultur a sledujeme vývoj klíčících rostlin a případné projevy sensitivity na selekčním médiu. Podle dalších pokynů pracujeme s klíčovými rostlinkami v dalších úlohách.