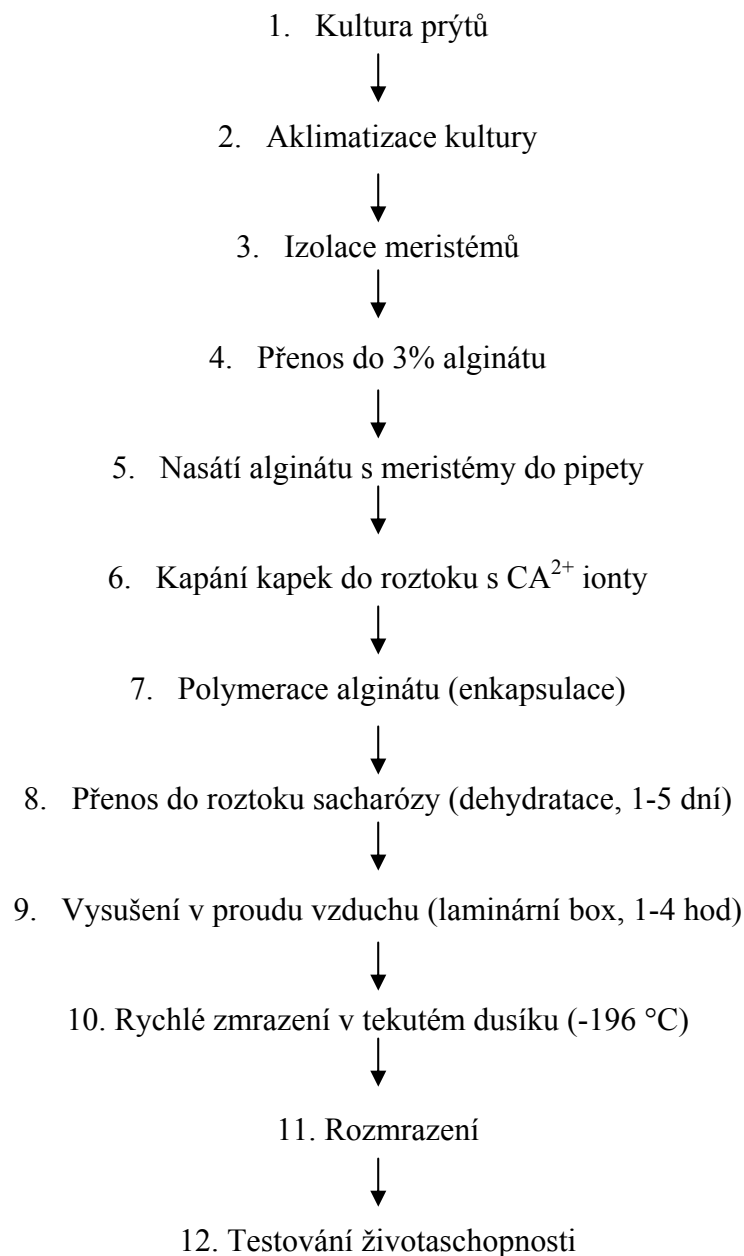


## Kryoprezervace

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 používaných metod je kryoprezervace s použitím enkapsulace a dehydratace (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. Kolmo postavenou pipetou pomalu odkapávejte alginát do roztoku  $CaCl_2$ , tak aby se vytvářely kapky s centrálně umístěným meristémem.
5. Ponechte 30 minut polymerizovat.
6. Vytvořené kuličky alginátu obalující meristém přeneste na povrch M-S media.

### Hodnocení

V následujících týdnech vyhodnoťte růst 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): THE USE OF *IN VITRO* METHODS FOR PLANT GENETIC CONSERVATION (využití kultur *in vitro* k uchování genových zdrojů rostlin). – Zahradnictví, 22: 143 – 148.