



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

TENTO PROJEKT JE SPOLUFINANCOVÁN EVROPSKÝM SOCIÁLNÍM FONDEM
A STÁTNÍM ROZPOČTEM ČESKÉ REPUBLIKY

Jméno:

Datum:

Téma 09: Kultury izolovaných zygotických embryí

Izolace zygotických embryí a jejich kultivace *in vitro* se používá pro překonávání dormance semen, při dopěstování hybridních embryí nebo jako zdroj ontogeneticky mladého materiálu při mikropropagaci. Embrya izolovaná ze zralých semen lze pěstovat poměrně snadno na běžných médiích, problémem při izolaci může být tvrdé osemení.

Materiál: semena a plody různých taxonů:

1. *Zea mays* L. – kukuřice setá
2. *Pisum sativum* L. – hrách setý
3. *Citrus limon* (L.) Burm. f. – citroník / citrón
4. *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik. – kokoška pastuší tobolka, apod.

Média: základní MS médium, 2% sacharosa, bez RR, 0,7% agar, pH 5,5
van der Salmova modifikace MS, 2% sacharosa, bez RR, 0,7% agar, pH 5,5

Pomůcky: Preparační mikroskop, laminární box, sterilní nástroje a Petriho misky, aj.

Postup práce:

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) 1x
4. Desinfekce ve 20% roztoku SAVO v SDV (v/v) 20 minut
5. Oplachování SDV 3x po dobu 3 - 5 minut.
6. Bobtnání semen 24 hodin - semena uzavřena ve sklenici v laminárním boxu.
7. Opakovaná desinfekce ve 20% roztoku SAVO v SDV (v/v) 20 minut
8. Oplachování SDV 3x po dobu 3 - 5 minut oplach SDV
9. Desinfikovaná semena nebo plody přeneseme sterilně do Petriho misky a připravujeme embrya, která inokulujeme na povrch agarového média. U menších semen připravujeme embrya s pomocí preparačního mikroskopu.

10. Zaznamenáme si složení živného média - především koncentrace makroelementů a sacharosy, formu chelátu železa, přítomnost nebo absenci růstových regulátorů - a počet inokulovaných embryí.

Hodnocení:

V následujících týdnech kontrolujeme čistotu kultur a vyhodnotíme růst embryí.

Literatura:

1. Raghavan V. et Torrey J. G. (1963): Growth and Morphogenesis of Globular and Older Embryo of *Capsella* in Culture. – *Am. J. Bot.* 50/6: 540-551.
http://www.jstor.org/stable/2440029?seq=1#page_scan_tab_contents
2. Tang W. *et al.* (2004): The Effect of Different Plant Growth Regulators on Adventitious Shoot Formation from Virginia Pine (*Pinus virginiana*) Zygotic Embryo Explants. - *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 78: 237–240.
3. Vilorio Z. *et al.* (2005): Immature Embryo Rescue, Culture and Seedling Development of Acid Citrus Fruit Derived from Interploid Hybridization. - *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 82: 159–167.