

Vliv cytokininů na obsah pigmentů u ředkvičky seté (*Raphanus sativus*) v podmínkách *in vitro*.

I. Založení experimentu

Postup:

A. Příprava 1 litru agarem ztuženého média s použitím hotové směsi

1. Navážíme 6,7 g agaru, vsypeme do 300 ml destilované vody v SIMAX láhvi, promícháme a necháme rozvařit v autoklávu.
2. Do Erlenmeyerovy baňky odměříme 600 ml destilované vody.
3. Přidáme odvážené množství média (4.4 g směsi MS média s vitamíny podle Gamborga).
4. Přidáme 20 g sacharózy.
5. Do 1F média přidáme růstové regulátory (BAP 1 mg/l, NAA 1 mg/l).
6. Slijeme rozvařený agar se zahřátým roztokem v EM baňce a doplníme v odměrném válci na 1000 ml.
7. Pomocí Phan papírků změříme pH a upravíme na 5,8 pomocí 0,1 M KOH nebo 0,1 M HCl.
8. Médium dobře promícháme přeléváním z válce do EM baňky a rozlijeme asi po 40 ml do kultivačních nádob.
9. Kultivační nádoby s médiem uzavřeme vhodným uzávěrem.
10. Sterilizujeme při 121°C v autoklávu po dobu 20 minut.
11. Krátkodobě média uchováváme při laboratorní teplotě, při skladování po delší dobu používáme lednici.

B. Pasážování mladých rostlinek ředkvičky na médium bez/s cytokininy

1. Desinfekce flowboxu.
2. Klíčící rostlinky v Petriho miskách přeneseme do flowboxu.
3. Do kultivačních nádob s příslušným médiem (MS bez fytohormonů nebo 1F s fytohormony) přeneseme sterilně několik rostlinek ředkvičky.
4. Kultivujeme při 16 hod. fotoperiodě, na A) normálním světle, B) velmi nízkém světle, teplotě +23 °C.