



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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

Jméno:

Datum:

Téma: 04b Mikropropagace kultivarů miniaturní růže - iniciace

Kultivary miniaturních růží se velmi dobře rozmnožují metodou *in vitro*. Iniciace kultury a její další růst a vývoj je silně ovlivňován genotypem zdrojové rostliny. Růže v kultuře *in vitro* trpí často již po několika dnech na klasickém MS médiu chlorózou z nedostatku železa. Nahrazením EDTA za EDDHA (ethylen-diamin-dihydroxy-fenylacetát) vzniká stabilnější chelát železa, které je tak delší dobu pro explantáty lépe dostupné a chlorózy kultur nebyly patrné více než 3 měsíce (Van der Salm *et al.* 1994).

Materiál: Prýty *in vitro* kultury miniaturní růže (*Rosa* sp.). Pokud kultura *in vitro* není k dispozici, je možné použít prýty z kultury v květináči, které běžným postupem povrchově desinfikujeme.

Médium: 1R = Van der Salmova modifikace MS média, vitamíny B5, 3% sacharosa, 0,7% agar, 0,5 mg.l⁻¹ BA, 0,1 mg.l⁻¹ IAA, pH 5,5

Postup:

1. Přenes kultivační nádoby s kulturou miniaturní růže do sterilního laminárního boxu.
2. Připrav kultivační nádoby s čerstvým médiem a sterilní nástroje (pinzety, skalpely).
3. Ožehni okraj uzávěru kultivační nádoby s kulturou a po otevření ožehni znovu hrdlo nádoby plamenem.
4. Vyjmi kulturu z kultivační láhve a polož na sterilní Petriho misku ve flowboxu.
5. Rozřež prýty na 2nodální segmenty a odstraň listové čepele sterilním skalpelem. Ponech pouze 3 mm řapík od každé čepele.
6. Odtrhni sterilní pinzetou zbytky řapíků a odhal axilární pupeny.
7. Zapíchni bázi segmentu do pevného 1R media a láhev uzavři uzávěrem.
8. Popiš kulturu.
9. Zapiš počet segmentů v kultivační nádobě a počet inokulovaných kultivačních nádob.

10. Kultivuj na světle v kultivační místnosti ($30 - 50 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$, fotoperioda 16/8hod) při 25°C po dobu čtyř týdnů.

Hodnocení:

V následujících týdnech kontroluj kontaminaci a růst a vývoj kultur. Odstraňuj kontaminované kultury.

Po čtyřech týdnech zaznamenej koeficient množení (průměrný počet prýtů na 1 explantát).

Literatura:

- Hasegawa, P.M. (1979): *In vitro* propagation of rose. - *HortScience*, **14**: 610-612.
- Bressan, P.H., Kim, Y.-J., Hyndman, SE., Hasegawa, P.M. and Bressan, R.A. (1982): Factors affecting *in vitro* propagation of rose. - *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, **107**: 979-990.
- Van der Salm T P. M., C. J. G. Toorn, Ch. H. Hänisch ten Cate, L. A. M. Dubois, D. P. Vries and H. J. M. Dons (1994): Importance of the iron chelate formula for micropropagation of *Rosa hybrida* L. 'Moneyway'. - *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **37**: 73-77.