



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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

Jméno:

Datum:

Téma 05b: Iniciace kalusové kultury z klíčnicích rostlin *Daucus carota* ssp. *carota* L.

Základním předpokladem pro úspěšnou kulturu *in vitro* je její sterilita. Díky použití sterilně vypěstovaných klíčnicích rostlin může být iniciace kalusu snadnější než použití nesterilního kořene mrkve s požadavkem desinfekce před jeho zavedením do kultur.

Materiál: klíčnicí rostliny mrkve (karotky) *Daucus carota* ssp. *carota* L.

Pomůcky:

Médium: 1D = MS základní soli, B5 vitamíny, sacharóza 20 g.l⁻¹, 2,4-D (0,1 mg/l), ztuženo 0,7% agarem, pH 5,7

Postup práce:

1. Asepticky vypěstované klíčnicí rostlinky mrkve přemístěte na sterilní Petriho misku.
2. Sterilním skalpelem rozdělte rostlinky na kořen, stoněk a list.
3. Oříhejte okraj víčka a po jeho sejmutí i okraj kultivační nádoby. Do každé kultivační nádoby vložte 4 – 5 explantátů bazální řeznou plochou do agarového média 1D (MS, 2% sacharóza, **0,1 mg/l 2,4-D**, 0,7% agar), každý typ rostlinného orgánu do samostatné nádoby.
4. Mezi jednotlivými operacemi odkládejte skalpel a pinzetu do 96% ethanolu a opakovaně nástroje ožehávejte.
5. Po inokulaci oříhejte opět okraj kultivační nádoby a uzavřete víčkem.
6. Zaznamenejte si počet segmentů v kultuře (v kultivační nádobě a počet nádob).
7. Kultivační nádoby umístěte do termostatu a kultivujte ve tmě při teplotě 25°C.

Hodnocení:

V následujících týdnech kontrolujeme čistotu kultur a vyhodnotíme četnost segmentů, na kterých došlo k iniciaci tvorby kalusu. Vyhodnotíme také úspěšnost iniciace kalusu na různých rostlinných orgánech.

