

Asymbiotický výsev semen orchidejí *in vitro*.

Úvod:

Semena orchidejí se před výsevem ošetřují desinfekčními roztoky z několika důvodů. Jednak je pro aseptické kultury *in vitro* třeba vydesinfikovat rostlinný materiál tak, aby byl jediným živým organismem, co se dostane do kultivační nádoby. Další důvod je ten, že většina orchidejí bez určitého ošetření semen klíčí špatně – desinfekce tu pomáhá zrušit dormanci semen. Mechanismus účinku u naprosté většiny druhů neznáme, uvažuje se narušení osemení či degradace inhibičních látek.

Postup:

Nejprve semena přesypat do injekční stříkačky s jehlou, v jejímž hrdle je kus molitanu (nebo jemné síťoviny) jako filtr. Uzavřít. Dále se nasávají jednotlivé desinfekční roztoky a semena zůstávají ve stříkačce.

- 1) 1 x ethanol – 5 minut
- 2) 3 x voda (destilovaná)
- 3) 3 x roztok chlornanu (vápenatý nebo sodný, se smáčedlem) – doba dle konkrétních semen
- 4) 3 x destilovaná sterilní voda
- 5) nasát sterilní destilovanou vodu
- 6) vyměnit jehlu za tlustou bez filtru (1,8 x 40)
- 7) vytlačovat suspenzi semen do kultivačních nádob
- 8) uzavřít kultivační nádoby

roztok chlorového vápna: 20 g na 100 ml vody, přefiltrovat

médium 1/4-2 (Ponert, 2011)

objem	1l
MS-A	12,5 ml
MS-B	1,25 ml
Fe	1,25 ml
MS-D	1,25 ml
pangamin	0,45 g
casein enz. hydrolyzát	1 g
ananasová šťáva	20 ml
sacharóza	15 g
aktivní uhlí	0,5 g
kinetin	2 mg
agar	7g
pH 5,8	

zásobní roztoky pro přípravu média:

MS-A

objem	1l
NH ₄ NO ₃	33 g
KNO ₃	38 g
CaCl ₂	6,62 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	7,4 g
KH ₂ PO ₄	3,4 g

MS-B

objem	500 ml
KI	0,083 g
MnSO ₄ ·H ₂ O	1,69 g
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,860 g
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,025 g
CuSO ₄ ·5H ₂ O	2,5 mg
CoCl ₂	1,3 mg

Fe

objem	500 ml
FeSO ₄ ·7H ₂ O	2,78 g
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	3,73 g

MS-D

objem	500 ml
inositol	10 g
kyselina nikotinová	50 mg
pyridoxin – HCl	50 mg
thiamin – HCl	50 mg
glycin	0,2 g

Ponert J., Vososobě S., Kmecová K., Lipavská H.: European Orchid Cultivation - from Seed to Mature Plant. European Journal of Environmental Sciences, 1 (2): 95 - 107, 2011.