

Zespół Szkół Ponadgimnazjalnych
w Chojnie



V EDYCJA
PROJEKTU EDUKACYJNEGO

**Licealista
w świecie nauki**

Uczestnicy projektu:

1. Hanna Babiarcz
 2. Ilona Brzezińska
 3. Wiktoria Bujak
 4. Oliwia Gramburg
 5. Łucja Koba
 6. Agata Kowalska
 7. Dawid Kukurowski
 8. Olga Kurpiel
 9. Justyna Leszczyńska
 10. Mariola Hendrysiak
 11. Agata Majewska
 12. Katarzyna Szymkowiak
 13. Dominika Zienkiewicz
 14. Łukasz Zimny
- opiekun- mgr Agnieszka Pawlaczyk



dr inż. Marcelina
Krupa-Matkiewicz



Temat badań: Rozmnażania roślin w kulturach in vitro i ich praktyczne wykorzystanie.

In-vitro to hodowla komórek, tkanek lub fragmentów organów roślinnych, prowadzona w naczyniach szklanych, na specjalnie dobranych pożywkach, w ściśle kontrolowanych, sterylnych warunkach.

Mechanizm kultur tkankowych związany jest z ich zdolnością morfogenetyczną. Komórki roślinne są totipotentne, czyli posiadają nieograniczone zdolności do dzielenia się i odtwarzania poszczególnych organów i całego organizmu.



Warunki prowadzenia kultur tkankowych

Kultury prowadzi się najczęściej na płytkach Petriego, kolbach stożkowych lub probówkach. Szkło i używane narzędzia należy poddać sterylizacji w suszarce lub autoklawie.

Pomieszczenia służące do przechowywania hodowli powinny być sterylne i zapewnić optymalne warunki do wzrostu roślin. Służą do tego celu tzw. Fitotrony, w których można kontrolować temperaturę i wilgotność powietrza.





Warsztaty I -Przygotowanie Pożywki (20.01. 2017)

Pożywka, na którą wyklada się ekplantaty musi dostarczać niezbędne do wzrostu i rozwoju związki mineralne (makro- i mikroelementy), źródło energii i węgla, witaminy, organiczny azot i regulatory wzrostu. Mają one znaczenie w przerywaniu spoczynku i indukcji podziałów komórek, ale również wiele czynników fizycznych pożywki ma wpływ na powodzenie kultury. Pożywką zaliczaną do podłoży bogatych jest ***pożywka Murashige i Skoog'a MS.***

	mM	mg/l
Źródła makroelementów (makropierwiastków)		
NH_4NO_3	20,6	1650
KNO_3	18,8	1900
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	3	440
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,5	370
KH_2PO_4	1,25	170
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	-	-
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-	-
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	-	-
KCl	-	-
Na_2SO_4	-	-
K_2SO_4	-	-
Źródła mikroelementów (mikropierwiastków)		
	μM	mg/l
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	100	27,8
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	-	-
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	100	37,3
KI	5	0,83
H_3BO_3	100	6,3
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	100	22,3
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-	-
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	30	8,6
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1	0,25
MoO_3	-	-
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,1	0,025
$\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,1	0,025
Składniki organiczne		
	μM	mg/l
sacharoza	87.600	30.000
mio-inozytol	555,1	100
kwask niotynowy	4	0,5
pirydoksyna-HCl	2,4	0,5
tiamina-HCl	0,3	0,1
pantotenian-Ca	-	-
glicyna	25	2
cysteina-HCl	-	-

Odmierzanie poszczególnych składników pożywki



Po rozpuszczeniu wszystkich składników w wodzie redestylowanej mierzy się pH pożywki za pomocą pH-metru używając 0,1 M NaOH lub HCL. Optymalna wartość waha się między 5 – 6.



Pożywkę należy wysterylizować w autoklawie w temp. 121°C

Warsztaty II –Inicjacja kultur pędowych ogórka
(03.02. 2017)

Odkazanie nasion poprzez moczenie w alkoholu i podchlorynie sodu







Umieszczenie nasion ogórka na pożywce wykonuje się w warunkach sterylnych, na stole z laminarnym przepływem powietrza, zapewniając w ten sposób sterylność prac.





Warsztaty III –Wyniki i wnioski (10.03. 2017)

Po wstępnych oględzinach własnych hodowli ogórka nastąpiło porównanie próby kontrolnej i badawczej.



Próba kontrolna z pożywką zawierającą standardową ilość cukru (30 g/dm³).



Próba badawcza z pożywką bez cukru.



Próba badawcza z pożywką zawierającą 60 g/dm^3 cukru.

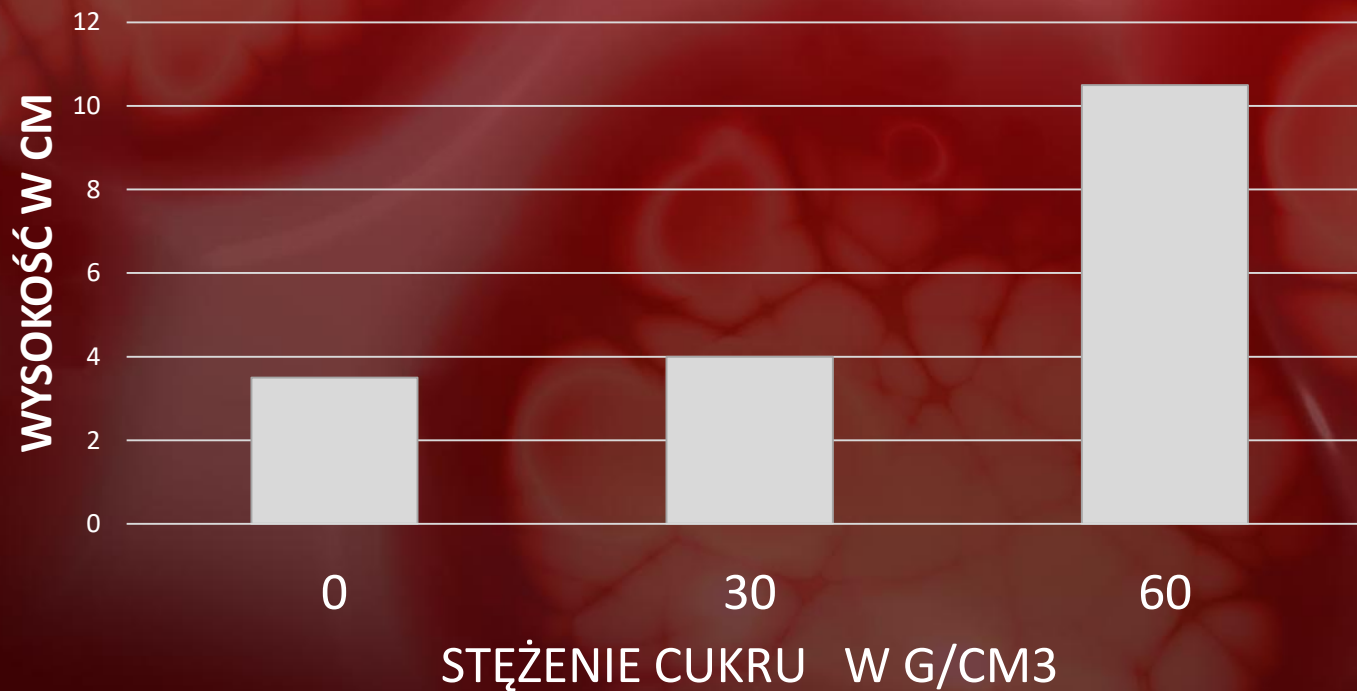


Mierzenie długości pędu ogórka w poszczególnych próbach
oraz porównanie wyników.



Wyniki

Stężenie cukru w g/cm ³	0	30	60
Wysokość łodygi	3,5 cm	4 cm	10,5



Wnioski:

- Brak cukru w pożywce wpływa hamująco na wzrost rośliny ogórka.
- Niedobór źródła węgla wpływa inhibitująco na produkcję chlorofilu.
- Podwojony dodatek cukru w pożywce powoduje zwiększenie powierzchni liścia
- Brak cukru w pożywce wpływa hamująco na proces ryzogenezy, natomiast zwiększona dawka cukru zwiększała go.





Zastosowanie kultur in-vitro

1. Produkcja nowych odmian roślin w wyniku wprowadzenia obcego DNA do genomu komórki roślinnej.
2. Hodowla roślin pozbawionych patogenów dzięki zastosowaniu kultur merystemów.
3. Hodowle bioreaktorowe do produkcji białek, antygenów i przeciwciał.
4. Pozyskiwanie farmakologicznie czynnych metabolitów wtórnych.
5. Produkcja odmian rzadkich, ginących lub chronionych.



Dziękujemy za uwagę