

Česká zemědělská univerzita

Závěrečná práce

2019

Tereza Ulvrová

Česká zemědělská univerzita v Praze

Institut vzdělávání a poradenství

Katedra celoživotního vzdělávání a podpory studia



**Začlenění nauky o *in vitro* kulturách
rostlin do výuky na střední škole**

Závěrečná práce

Autor: Ing. Tereza Ulvrová

Vedoucí práce: PhDr. Lucie Smékalová, Ph.D. et
Ph.D.

2019

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci na téma: "Začlenění nauky o *in vitro* kulturách rostlin do výuky na střední škole" vypracovala samostatně a citovala jsem všechny informační zdroje, které jsem v práci použila a které jsem rovněž uvedla na konci práce v seznamu použitých informačních zdrojů.

Jsem si vědoma, že na moji závěrečnou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, především ustanovení § 35 odst. 3 tohoto zákona, tj. o užití tohoto díla.

Jsem si vědoma, že odevzdáním závěrečné práce souhlasím s jejím zveřejněním podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a to i bez ohledu na výsledek její obhajoby.

Svým podpisem rovněž prohlašuji, že elektronická verze práce je totožná s verzí tištěnou a že s údaji uvedenými v práci bylo nakládáno v souvislosti s GDPR.

(podpis autora)

V _____ dne _____

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala své vedoucí práce PhDr. Lucii Smékalové, Ph.D. et Ph.D. za podnětné konzultace a za skvělé vedení závěrečné práce. Také bych ráda poděkovala celé své rodině za neustálou podporu při mých (poměrně dlouhých) studiích.

Abstrakt

Hlavním cílem závěrečné práce je začlenění nauky o *in vitro* kulturách do výuky na středních školách a vytvoření pracovních listů, které by výuku vhodně doplňovaly. Teoretická část představuje didaktickou transformaci vybraných témat z dostupných odborných zdrojů, jejichž rozsah byl stanoven tak, aby odpovídal rozsahu výuky na střední škole a aby se slučoval se Školním vzdělávacím programem vybrané střední školy. Pro tyto účely byl vybrán obor Agropodnikání na Střední odborné škole Frýdek-Místek. Jelikož k danému tématu nejsou pro střední školy dostupné žádné pracovní sešity, byly v praktické části sestaveny originální pracovní listy. Výsledkem je devět stránek pracovních listů, které jsou rozděleny na dvě části. První část je určena k zápisu poznámek při výkladu učitele a druhá část je určena k samostudiu žáků. Začlenění tématu *in vitro* kultur do výuky na středních zemědělských školách může obohatit studenty, rozšířit jejich obzor a pomoci jim při rozhodování ve výběru vysoké školy nebo zaměstnání. Pracovní listy budou užitečnou pomůckou při jejich výuce, které žákům pomohou vytvořit si ucelený přehled o tématu, upevní jejich znalosti a také jim studium tématu zpříjemní.

Klíčová slova: Střední škola, školní vzdělávací program, pracovní listy, tkáňové kultury rostlin

Abstract

The main aim of the thesis has been to integrate the topic of *in vitro* cultures into secondary school education and the creation of worksheets that would complement the teaching suitably. The theoretical part represents didactic transformation of selected topics from available sources. The scope of the subject corresponds to the range of secondary school education and corresponds to the school education program of the selected secondary school. For this purpose, the education program of Agribusiness at the secondary school in Frýdek-Místek was selected. Since there are no workbooks based on this topic available for secondary schools, the original worksheets have been compiled in the practical part. The result is a set of nine pages of worksheets that are divided into two parts. The first part is for the purpose of writing notes and the second part is for self-study. Incorporating the theme of *in vitro* cultures into secondary school education can enrich students, broaden their insight and help them make choices in university or work. Worksheets will be a useful tool in their teaching. They can help students to get an overview of the subject, to consolidate their knowledge, and to make the topic more pleasant.

Keywords: High school, school educational program, worksheets, plant tissue culture

Obsah

| | |
|--|----|
| Úvod..... | 1 |
| 1 Cíl a metodika..... | 2 |
| 2 Využití pracovních listů ve výuce | 3 |
| 2.1 Výukové metody a organizace vyučování | 3 |
| 2.1.1 Kritéria volby výukových metod | 3 |
| 2.2 Pracovní listy..... | 4 |
| 2.2.1 Tvorba pracovního listu | 5 |
| 2.2.2 Pracovní listy v praxi | 5 |
| 3 <i>In vitro</i> kultury rostlin v zemědělství..... | 7 |
| 3.1 Moderní biotechnologie rostlin | 7 |
| 3.2 <i>In vitro</i> kultury rostlin | 7 |
| 3.2.1 Organizace laboratoře | 8 |
| 3.2.2 Složení kultivačního média..... | 10 |
| 3.2.3 Mikropropagace | 12 |
| 3.2.4 Výhody a nevýhody <i>in vitro</i> propagace | 14 |
| 3.2.5 Komerční využití mikropropagace | 14 |
| 3.2.6 Rostlinné druhy využívané k mikropropagaci | 15 |
| 4 Praktická část | 17 |
| 4.1 Zapojení praktické ukázky <i>in vitro</i> kultur do výuky | 17 |
| 4.2 Začlenění tematického celku do Školního vzdělávacího programu..... | 19 |
| 4.3 Pracovní listy z <i>in vitro</i> kultur rostlin | 20 |
| 5 Závěr | 30 |
| Seznam použitých zdrojů..... | 31 |
| Seznam tabulek | 34 |
| Seznam obrázků..... | 34 |

Úvod

Tkáňové kultury rostlin jsou součástí rostlinných biotechnologií, které nabízejí nepřehledné množství uplatnění na poli pracovního trhu. Z vlastní zkušenosti vědecko-technické pracovnice ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v. v. i. vím, že je zájem o schopné pracovníky na pozice odborných či vědecko-technických pracovníků. Proto si myslím, že je důležité, aby se žáci zemědělských či zahradnických středních škol s tímto tématem seznámili a vyzkoušeli si základní postupy při manipulaci s rostlinami. Absolventi by se díky takto nabytým zkušenostem a vědomostem mohli ucházet o práci odborného pracovníka v zemědělských organizacích nebo by jim rozhled v této problematice mohl pomoci při výběru specializovaných oborů na vysokých školách.

Z těchto důvodů tato závěrečná práce představuje analýzu tohoto tematického celku, jeho možné zapojení do Školního vzdělávacího programu a způsoby praktické ukázky tkáňových technologií během výuky. Jelikož pracovní sešity k tomuto tématu nejsou dostupné, jako součást praktické části závěrečné práce byly vytvořeny pracovní listy, které doplňují a obohacují výuku tkáňových kultur na středních zemědělských školách.

1 Cíl a metodika

Hlavním cílem této závěrečné práce bylo začlenění nauky o *in vitro* kulturách rostlin do výuky na středních zemědělských školách.

Na základě hlavního cíle byly vytvořeny tyto podcíle:

- analýza vybraného tematického celku;
- zapojení praktické ukázky *in vitro* kultur do výuky;
- začlenění tematického celku do Školního vzdělávacího programu vybrané střední školy;
- sestavení pracovních listů na dané téma.

Teoretická část je didaktickou transformací vybraných témat z dostupných odborných zdrojů, přičemž rozsah témat byl zvolen tak, aby odpovídal rozsahu učiva pro střední školy a aby se slučoval se školním vzdělávacím programem vybrané střední školy. Při vypracování práce byly použity obecné teoretické metody, jako je analýza, syntéza, indukce, dedukce, analogie a srovnání. Do praktické části byla začleněna i tvůrčí činnost při sestavování pracovních listů, které byly sestaveny na základě mých zkušeností s tímto oborem a na základě informací zjištěných při didaktické transformaci vybraných témat.

2 Využití pracovních listů ve výuce

2.1 Výukové metody a organizace vyučování

Výukové metody představují jednu ze základních didaktických kategorií (Červenková, 2013, s. 20). Průcha a kol. (2003, s. 287) charakterizuje výukovou metodu jako „*koordinovaný systém činností učitele vedoucí žáka k dosažení stanovených vzdělávacích cílů*“.

Klasifikace výukových metod podle I. J. Lerner (1986):

1. informačně-receptivní metoda;
2. reproduktivní metoda;
3. metoda problémového výkladu;
4. heuristická metoda;
5. výzkumná metoda.

V prvních dvou metodách převládá aktivita učitele a žák je zde stavěn do pasivnější pozice. Tyto metody jsou založené na vnímání a promyšleném opakování látky nebo činnosti žákem. Naopak heuristická a výzkumná metoda jsou charakterizovány podílem aktivity žáka. Poznatky tak nejsou přijímány ve finální formě, ale jsou žákem vytvářeny a učitel zaujímá roli rádce. Přečinnou metodu představuje metoda problémového výkladu (Červenková, 2013, s. 24-25).

Výuka by neměla být tvořena pouze reproduktivními metodami. Velmi důležité je správné začlenění aktivizačních metod, které působí na samostatnost žáků a rozvíjí jejich myšlení. Z tohoto důvodu je klíčové využívání pracovních listů během výuky, které vyžaduje aktivní zapojení žáků.

2.1.1 Kritéria volby výukových metod

Hlavním faktorem, který je nutno při výběru výukových metod brát v potaz, je faktor času. Musí být zohledněno, po jakou dobu výuková jednotka probíhá. Zda se jedná o tradiční vyučovací hodinu (45 minut), dvouhodinovou jednotku či hodinu rozdělenou. Dále se rovněž zohledňuje prostředí, ve kterém výuka probíhá. Zda je vyučování realizováno ve třídě, odborné učebně, laboratoři či v přirozeném prostředí v rámci exkurze. Tyto faktory učitel většinou nemá možnost ovlivnit. Co však může ovlivnit,

je počet zúčastněných žáků. Učitel rozhoduje, zda bude vést výuku hromadně, skupinově, párově, individuálně nebo jako samostatnou práci (Červenková, 2013, s. 21-22).

S. Shapiro (1992) vytvořil model pyramidy učení, která poukazuje na fakt, jak výběr jednotlivých výukových metod ovlivňuje procento zapamatování poznatků žákem (Kalhous a Obst, 2002, s. 308):

- přednáška - 5 %;
- čtení - 10 %;
- audiovizuální metody - 20 %;
- demonstrace - 30 %;
- diskuse ve skupinách - 50 %;
- praktická cvičení - 70 %;
- vyučování ostatních - 90 %.

Z tohoto modelu vyplývá, že hned po vyučování ostatních, praktická cvičení napomáhají žákům, aby si zapamatovali co nejvíce poznatků z vyučovací jednotky. Pouhým posloucháním výkladu učitele, si žáci zapamatují pouze 5 % poznatků, oproti 70 % zapamatované látky v případě praktických cvičení. To poukazuje na fakt, že použití pracovních listů ve výuce plní důležitou roli a nemělo by být učiteli opomíjeno.

2.2 Pracovní listy

Pracovní listy řadíme podobně jako učebnice a pracovní sešity mezi textové pomůcky, které jsou součástí materiálních didaktických prostředků (Tymráková a kol., 2005, s. 87). Učební pomůcky a didaktická technika jsou důležitou součástí výuky, neboť plní zprostředkující funkci mezi učitelem a žákem. Pomáhají žákům zprostředkovat učební látku, čímž nepřímo přispívají k efektivnějšímu osvojování potřebné informace, dovednosti nebo pracovního návyku. (Mužík, 1998).

Pracovní listy obsahují podobné typy úloh jako pracovní sešity, avšak poskytují učitelé větší přizpůsobení edukačnímu procesu díky možnosti zařazení v různém pořadí a také možnosti vlastní tvorby, díky které může učitel reagovat na aktuální potřeby dané třídy a tematického celku (Tymráková a kol., 2005, s. 87). Díky vlastní tvorbě pracovních listů je učitel schopen vytvořit velké množství různých variací na probíranou látku dle

úrovně žáků a rozsahu tématu (Mužík, 1998). Jejich použití ve výuce plní několik úloh jako je fixace probraného učiva či diagnostika znalostí žáků. Navíc střídání různého typu úloh, formy i obsahu přispívá k aktivizaci žáků. Jelikož žáci mohou pracovat svým tempem a utvářet si nebo ověřovat vlastní závěry, přispívají pracovní listy k samostatnosti žáků. Pro učitele je také důležité, že napomáhají individualizovat přístup k žákům, protože žáci mohou pracovat vlastním tempem a učitel má možnost upravit či zjednodušit vlastní obsah listů, a tak vhodně přistupovat k žákům se specifickými poruchami učení. V neposlední řadě jejich tvorba dává prostor pro tvůrčí činnost učitele, neboť mu umožňuje zařadit chybějící učivo a procvičit problematiku učivo či přizpůsobit učivo regionálním zvláštnostem (Tymráková a kol., 2005, s. 87).

2.2.1 Tvorba pracovního listu

Při tvorbě pracovních listů je důležitá nejen znalost daného tematického celku, ale také psychologie dítěte, pedagogiky a příslušné oborové didaktiky. Velmi důležité je stanovení cíle pracovního listu, kterým se řídí jak typy úloh, tak náročnost látky. Cílem může být vyhledávání a zápis informací, procvičování či upevňování probírané látky, opakování již dříve probraného učiva, shrnutí a poukázání na souvislosti a v neposlední řadě zjišťování vědomostí (Tymráková a kol., 2005, s. 90).

Tymráková a kol. (2005, s. 90-91) dle analýzy chyb v pracovních listech studentů sestavili postup při tvorbě pracovních listů:

1. volba tématu;
2. cíl pracovního listu;
3. volba formy a grafiky;
4. návaznost úloh;
5. střídání různých typů úloh;
6. délka jednotlivých úloh.

2.2.2 Pracovní listy v praxi

Šimik (2011, s. 461-466) svou analýzou pracovních listů žáků poukázal na fakt, že využitím pracovních listů se výuka stává pro žáky atraktivnější. Žáci jsou vybízeni svou učební činností a přemýšlením o ní písemně zaznamenávat, což způsobuje že takto

koncipovaná výuka není pro žáky jen zábava, ale i vyšší typ učení s vyššími myšlenkovými operacemi. Výuka tak není jen memorování faktů a jejich reprodukce.

Podle studie Hübelové a kol. (2008, s. 155-156) zkoumající uplatnění didaktických prostředků a médií ve výuce zeměpisu, se pracovní listy nejvíce uplatňují při opakování učiva (6,2 %), procvičování či upevňování učiva (10,1 %) a zejména při zkoušení žáků (12,9 %), kde byly pracovní listy využity především k samostatné práci žáků (Tabulka 1). Obdobných výsledků dosáhli Janík a kol. (2007, s. 91-92), kteří se zaměřili na výuku fyziky. Dle jejich studie se pracovní listy nejvíce využívají k procvičování či upevňování studia (15,6 %) a při zkoušení žáků (18,7 %), kde slouží obdobně k samostatné práci žáků.

Tabulka 1: Uplatnění didaktických prostředků a médií v jednotlivých výukových formách

| FÁZE VÝUKY | MÉDIA | | | | | | | | | | |
|---|-----------|--------|---------------|-------------------------|----------------------|--------|-----------------------------|----------------|--------|------------------|---------|
| | Bez médií | Tabule | Pracovní list | Učebnice/ cvičebnice | Model/ experiment | Fólie | Obráz/ mapa/ kartičky | Video/ film | ICT | Více současně | Ostatní |
| Opakování | 62,2 % | 8,7 % | 6,2 % | 0,4 % | | 0,5 % | 18,6 % | | 0,7 % | 2,6 % | |
| Úvod výuky | 87,8 % | 9,4 % | 0,6 % | | 0,6 % | | | | 1,7 % | | |
| Zprostředkování nového učiva | 44,0 % | 14,7 % | 1,9 % | 4,8 % | 0,3 % | 0,1 % | 23,6 % | 1,3 % | 2,2 % | 7,2 % | |
| Procvičování/ upevňování učiva | 18,1 % | 6,9 % | 10,1 % | 1,5 % | 0,4 % | 1,7 % | 25,5 % | | 2,1 % | 33,6 % | |
| Aplikace/ prohlubování učiva | 51,3 % | 7,8 % | | 1,2 % | 14,4 % | | 1,2 % | 0,6 % | 0,6 % | 23,1 % | |
| Shrnutí učiva | 32,7 % | 24,5 % | 0,1 % | 0,1 % | 0,1 % | 14,0 % | 2,7 % | | 25,5 % | 0,3 % | |
| Rekapitulace | 62,5 % | 14,3 % | | | | | 12,5 % | | 5,5 % | 5,4 % | |
| Zkoušení, prověrka, kontrola d.ú. | 16,8 % | | 12,9 % | 1,1 % | | 7,3 % | 19,6 % | | | 42,3 % | |
| Ostatní | 81,3 % | 1,9 % | 3,3 % | 1,2 % | | 1,8 % | 4,2 % | | 2,7 % | 3,5 % | |

Zdroj: Hübelová a kol., 2008, s. 155-156

3 *In vitro* kultury rostlin v zemědělství

3.1 Moderní biotechnologie rostlin

Biotechnologické postupy byly lidstvem využívány již v pradávnu. Zprvu byly využívány například pro výrobu piva, vína či pečiva, později šlo například o produkci penicilinu či bioplynu a dnes se díky moderním biotechnologiím rozvíjí obor genové inženýrství kulturních rostlin, jehož cílem je vývoj rostlin s unikátními vlastnostmi (Fantová, 2011, s. 16).

Pojem biotechnologie je velmi široký a zahrnuje řadu vědních disciplín, oborů a metod. Pro lepší představu, Úmluva o biologické rozmanitosti definuje biotechnologie takto: „*Biotechnologie znamená jakoukoli technologii, která využívá biologických systémů, živých organismů, nebo z nich odvozených biologických systémů k produkci nebo modifikaci výrobků či procesů pro specifické použití*“ (Sdělení č. 134/1999 Sb, 1994).

V současné době se biotechnologie uplatňují, krom jiného, v zemědělství, potravinářství, lesnictví či ochraně životního prostředí. V zemědělství je velmi důležitá jejich aplikace v ozdravování, rozmnožování a šlechtění kulturních rostlin, pro což je významné využití *in vitro* kultur rostlin (Fantová, 2011, s. 16).

3.2 *In vitro* kultury rostlin

Rostliny mohou být pěstovány nejen tradičně v přirozených podmínkách, ale jejich kultivace může probíhat i v různých umělých podmínkách. Jednou z těchto možností je pěstování rostlin či jejich částí, takzvaných rostlinných explantátů, v *in vitro* podmínkách. Rostliny jsou tímto způsobem pěstovány za specifických podmínek v uzavřených, nejčastěji skleněných, nádobách. Odtud pochází také jejich název, jelikož *in vitro* znamená ve skle (Katedra experimentální biologie rostlin, 2019).

První pokusy kultivovat oddělené části rostlin byly popsány již v 17. století Malpighim (Pavlová, 1992, s. 4), ale za vlastní počátek *in vitro* kultur je považována práce Gottlieba Häberlandta (1854-1946), který položil teoretické základy tohoto oboru (Thorpe, 2007, s. 169). Rostlinné buňky jsou totipotentní, což je základním

předpokladem růstu a vývoje explantátových kultur. Je to schopnost somatické buňky dát vznik všem typům buněk a jejím projevem je regenerace (Pavlová, 1992, s. 3).

In vitro kultury rostlin jsou interdisciplinární metodou, která má širokou škálu využití. Podle Pavlové (1992, s. 4) je tato metoda využívána zejména k těmto účelům:

- mikropropagace;
- ozdravování rostlinného materiálu;
- využití přirozené variability i indukovaných změn a selekce materiálu;
- genetické manipulace;
- studium fyziologických procesů a vztahů;
- produkce sekundárních metabolitů.

3.2.1 Organizace laboratoře

Laboratoře rostlinných explantátů mohou být velmi variabilní, avšak její zařízení a organizace musejí vést k dodržení aseptického prostředí pro kultivované rostliny (Reed a kol., 2004, s. 35). Bakterie a plísňe rostoucí okolo rostlin či v explantátech jsou hlavními biologickými kontaminanty. Tyto kontaminanty jsou přítomné v laboratoři na všech površích a ve vzduchu, na lidech a také ve špatně připravených kultivačních médiích. V našem prostředí se sice vyskytují přirozeně, ale když přijdou do kontaktu s médiem, ve kterém jsou rostliny pěstované, najdou zde optimální podmínky a rostou mnohem rychleji než kultivovaná rostlina (Ponmurugan a Kumar, 2011, s. 11).

Ponmurugan a Kumar (2011, s. 5-6) charakterizovali základní sekce laboratoře na *in vitro* kultury rostlin:

- prostor na umývání;
- prostor na přípravu médií – důležitým vybavením jsou pH metr, míchačka, váhy, výrobce destilované vody a tento prostor by měl obsahovat dostatek místa na vhodné uložení chemikálií a laboratorního skla;
- prostor na sterilizaci – pro sterilizaci médií, vody a nástrojů je nejčastěji používán autokláv, kde dochází ke sterilizaci horkou párou za teploty 121°C za tlaku 0,7-1 atmosfér (Pavlová, 1992, s. 21);

- inokulační místnost – nejvíce používané zařízení pro sterilní inokulaci a transfer rostlin je laminární box;
- kultivační místnost – zde dochází k inkubaci rostlin při kontrolované teplotě, světle a vzdušné vlhkosti;
- prostor na sledování a měření rostlin.

Kromě přístrojů jsou při kultivaci velmi důležité nástroje a laboratorní sklo, jako skalpely, pinzety, kahany (sterilizace nástrojů), odměrné nádoby, pipety, kádinky, petriho misky a nádoby na kultivaci rostlin, jako jsou zkumavky nebo erlenmeyerovy baňky (Reed a kol., 2004, s. 36-37; Ponmurugan a Kumar, 2011, s. 7).

Jak bylo popsáno v úvodu této podkapitoly, v kulturách rostlin *in vitro* je velmi důležité dodržování aseptického prostředí, k čemuž nám slouží sterilizace. Nejvíce užívanou sterilizací je sterilizace horkem. Tuto metodu využívají různé pece, používané zejména pro sterilizaci skla a nástrojů, nebo autoklávy, které se používají pro stejné účely a také pro sterilizaci médií. Tekutá média mohou být sterilizována také pomocí různých filtrů. Velmi důležitá je povrchová sterilizace rostlin před jejich převedením do *in vitro* podmínek, k čemuž se často využívá NaOCl, CaOCl₂, HgCl₂ či etanol. Po povrchové sterilizaci se s rostlinami, stejně tak jako při jakékoli manipulaci s *in vitro* rostlinami, pracuje v laminárním boxu, kde je jediné sterilní prostředí v laboratoři díky vzduchovým filtrům a úvodní sterilizaci UV zářením (Jha a Ghosh, 2005, s. 29-30).

Vzhledem k přísným hygienickým standardům, které musí být v laboratoři dodržovány, aby byly zajištěny aseptické podmínky kultur, a vzhledem k faktu, že pracujeme s řadou chemikálií, musí být v laboratoři dodržována bezpečnostní pravidla. Jha a Ghosh (2005, s. 33) mezi nejdůležitější pravidla, která by měla být v laboratoři striktně dodržována, zařadili:

- nošení laboratorního pláště a přezůvek;
- zákaz pití, jídla a kouření;
- pokud se člověk polije chemikálií, měl by si zasažené místo okamžitě opláchnout dostatečným množstvím vody a umýt mýdlem;

- nikdy neuklízet rozbité sklo rukama a nikdy ho nevhazovat do odpadkového koše;
- chemikálie se nikdy nelijí do dřezu či odpadu;
- je zakázáno pipetovat chemikálie ústy;
- nikdy nečicháme přímo k chemikáliím, ale použijeme mávnutí ruky nad chemikálií;
- důležité je důsledné značení jak chemikálií, tak pěstovaných kultur.

3.2.2 Složení kultivačního média

V *in vitro* podmínkách žije rostlinný materiál v uzavřeném prostoru, a proto je nutné kulturám dodat veškeré potřebné živiny a regulační látky prostřednictvím kultivačního média. Složení média musí vyhovovat kultivovanému materiálu, což znamená že musíme médium přizpůsobit rostlině a záměru kultivace (Pavlová, 1992, s. 6). Složení médií je předmětem bádání řady vědců, avšak jedním z nejpoužívanějších médií a zároveň základním médiem je MS médium (Murashige a Skoog, 1962). Jeho složení je uvedeno v tabulce 2.

Kultivační médium se skládá z následujících základních složek (Pavlová, 1992, s. 6-20; Ponmurugan a Kumar, 2011, s. 31-36):

- voda – je základní složkou všech médií a zároveň zdrojem vodíku a kyslíku, do médií se používá vždy destilovaná;
- makroelementy – dusík, fosfor, draslík, vápník, hořčík, síra;
- mikroelementy – železo, mangan, zinek, bor, měď, molybden, kobalt, jód a další;
- cukry – jsou zdrojem uhlíku, jelikož množství CO₂ může být v kultuře nedostatečné;
- vitamíny;
- ztužovací činidla – nejčastěji používaným činidlem je agar.

K modifikaci růstu rostlin se v médiích standartně používají růstové regulátory, a to nejčastěji auxiny a cytokininy. Auxiny působí na iniciaci růstu vrcholových meristémů stonků, na tvorbu kalusu a na zakořenění rostlin (Pavlová, 1992, s. 13). Naopak cytokininy mají vliv na tvorbu nových výhonů (Ponmurugan a Kumar, 2011, s. 37).

Velmi důležitá je také úprava pH média na vhodnou hodnotu pro pěstování rostlin. Například u základního MS média se uvádí, že by mělo mít pH upraveno na hodnotu 5,7-5,8 (Murashige a Skoog, 1962, s. 485).

Tabulka 2: Předpis na přípravu MS média

| Makroelementy | | Mikroelementy | | Organické látky | |
|---------------------------------------|-------|--|-------|------------------|---------|
| Soli | mg/l | Soli | mg/l | Látka | mg/l |
| NH ₄ NO ₃ | 1 650 | H ₃ BO ₃ | 6,2 | Myo-Inositol | 100 |
| CaCl ₂ · 2H ₂ O | 440 | CoCl ₂ · 6H ₂ O | 0,025 | Kys. nikotinová | 0,5 |
| MgSO ₄ · 7H ₂ O | 370 | CuSO ₄ · 5H ₂ O | 0,025 | Pyridoxin | 0,5 |
| KH ₂ PO ₄ | 170 | MnSO ₄ · 4H ₂ O | 22,3 | Thiamin | 0,1 |
| KNO ₃ | 1 900 | KI | 0,83 | Glycin | 2,0 |
| FeSO ₄ ·7H ₂ O | 5 570 | Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O | 0,25 | Edamin | 1 000 |
| Na ₂ -EDTA | 7 450 | ZnSO ₄ ·7H ₂ O | 8,6 | Kys. indoloctová | 1-30 |
| | | | | Kinetin | 0,04-10 |
| | | | | Sacharóza | 30 000 |
| | | | | Agar | 10 000 |

Zdroj: Murashige a Skoog, 1962, s. 485

3.2.3 Mikropropagace

Z širokého využití *in vitro* kultur jsem si pro podrobnější charakteristiku vybrala mikropropagaci. Znalost této metody nabízí absolventům středních škol kvalitní uplatnění, jelikož mikropropagace má své místo nejen ve výzkumných ústavech, ale hlavně v komerční sféře.

Tato metoda slouží jak k namnožení velkého množství rostlin, tak k rychlejší produkci rostlin, které se pomalu množí klasickými metodami nebo jejichž množení je problematické. Mikropropagace také slouží k uchování genetického materiálu mnoha druhů rostlin (Dunwell, 2010, s. 317; Ponmurugan and Kumar, 2011, s. 64).

Mikropropagací se z malé části mateřské rostliny vegetativně namnoží velký počet, zpravidla malých, jedinců ve sterilních podmínkách (Pavlová, 1992, s. 43). Celý proces mikropropagace je konvenčně dělen do pěti stádií. Stádia 1-4 byly prvně popsány Murashigem (1974, s. 135-166) a Debergh s Maenem (1981, s. 335-345) doplnily proces o nulté stádium:

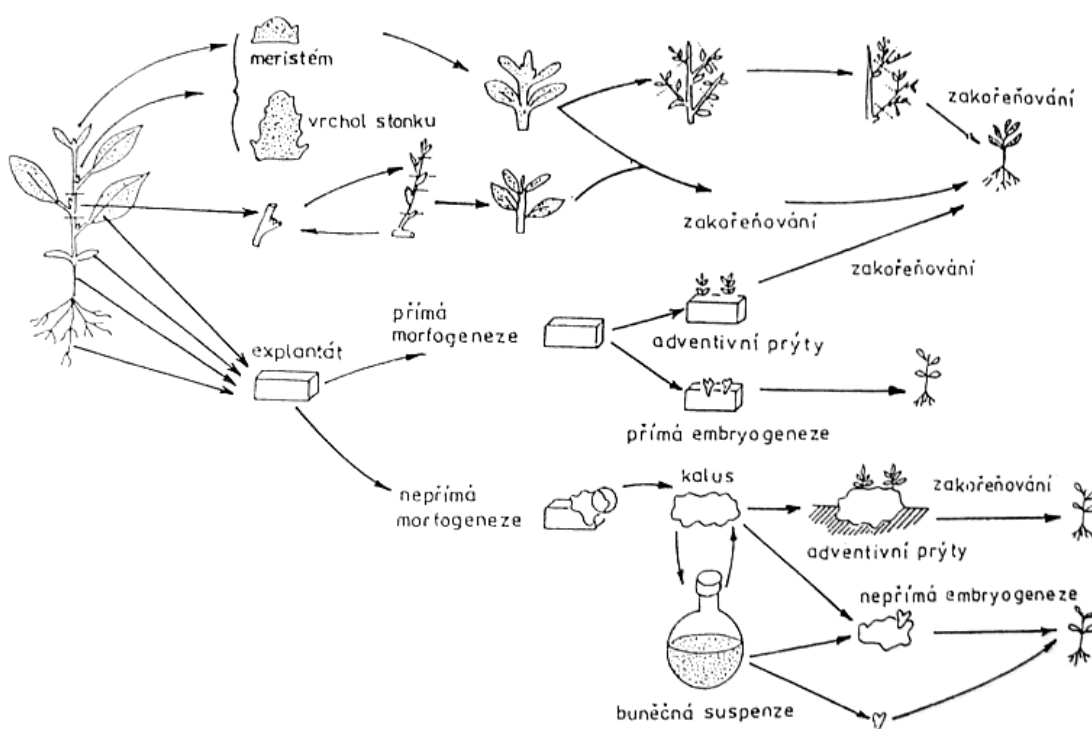
- **Stádium 0:** Přípravné stádium
Výběr mateřské rostliny, která by měla být v optimálním fyziologickém stavu a bez patogenů.
- **Stádium 1:** Založení explantátové kultury
Cílem tohoto stádia je převedení primárního explantátu, který je získán z mateřské rostliny, do podmínek *in vitro*. K získání aseptické kultury je nutná povrchová sterilizace explantátu.
- **Stádium 2:** Multiplikace
Stádium je charakteristické tvorbou nových výhonů, které se oddělují od rostlin a pasážují na nové médium, čímž dochází k rychlému namnožení materiálu. Tvorba výhonů je podporována přítomností cytokininů v médiu.
- **Stádium 3:** Zakořenění rostlin
V tomto stádiu probíhá příprava na převod do přirozených podmínek. Rostliny zakořeňují *in vitro*, k čemuž jim pomáhá přítomnost auxinů v médiu.
- **Stádium 4:** Transfer do přirozených podmínek

Správné zvládnutí finální fáze je velmi důležité, jelikož zánik rostlin v tomto stádiu představuje velkou ekonomickou ztrátu, a tak musí být rostliny pečlivě aklimatizovány. Rostliny jsou vyjmuty ze skleněných nádob, omyty a přesazeny do půdního substrátu. Ze začátku se udržuje vysoká vzdušná vlhkost a postupem času se rostliny otužují, až jsou schopny zdravého růstu v přirozených podmínkách.

(Pavlová, 1992, s. 44-45; Ponmurugan and Kumar, 2011, s. 65-67)

Nejčastější metodou, která se používá k množení rostlin *in vitro*, jsou kultury vzrostných vrcholů, axilárních pupenů a nodů. Dalším způsobem regenerace je tvorba adventivních pupenů a prýtlů přímo z buněk primárního explantátu, kdy nové prýtle mohou vznikat z buněk různých orgánů, jako jsou například listy, stonky, kořeny či květní části. *In vitro* propagace rostlin může také probíhat nepřímou tvorbou pupenů či embryí přes kalus (Pavlová, 1992, s. 46-51). Metody mikropropagace rostlin jsou názorně popsány v obrázku 1.

Obrázek 1: Metody mikropropagace rostlin podle George a Sherringtona, 1984



Zdroj: Šalvěj divotvorná, 2019

3.2.4 Výhody a nevýhody *in vitro* propagace

Metoda množení rostlin pomocí mikropropagace má řadu výhod. Hlavním znakem mikropropagace a jejím nejdůležitějším benefitem, je produkce geneticky uniformních rostlin, což v praxi znamená, že vyprodukované rostliny mají všechny předpoklady, aby byly morfologicky totožné (Jha a Ghosh, 2005, s. 48). Další výhodou je, že *in vitro* kulturu můžeme založit i z malé části mateřské rostliny, a přesto získáme velké množství nových jedinců. Benefitem je také fakt, že rostliny produkované touto metodou jsou bez bakterií a virů. Mikropropagací vzniká, oproti konvenčnímu množení, velké množství rostlin za krátký časový úsek, a to díky tomu, že můžeme ovlivňovat řadu faktorů v průběhu procesu, jako jsou živiny, množství růstových regulátorů, světlo a teplota. Tato metoda je vhodná i pro produkci klonů rostlin, které je za normálních podmínek těžké množit či dokonce, i když je to za obvyklých podmínek úplně nemožné. Jednou z největších výhod je, že mikropropagací mohou být rostliny produkovány po celý rok, bez ohledu na sezónnost, což je v konvenčním pěstování nemožné. Tyto rostliny také mohou být v *in vitro* podmínkách uchovávány po velmi dlouhou dobu a na poměrně malém prostoru, a tak se jejich produkce může přizpůsobit nárokům trhu. Kromě toho, při takovéto kultivaci odpadávají povinnosti, jako je zalévání rostlin, vytrhávání plevelů, hnojení a postřiky proti škůdcům (George a Debergh, 2008, s. 30).

Nedá se však předpokládat, že množení rostlin *in vitro* nemá žádné nevýhody. Největší nevýhody jsou spojené s nutným dostatkem znalostí tohoto oboru a s dostatečným vybavením laboratoře, které je finančně značně náročné. Kromě toho, rostliny pěstované *in vitro* nejsou schopny plně fotosyntézy a jsou zvyklé na vysokou vzdušnou vlhkost, takže může být problém s jejich převodem do *ex vitro* podmínek (George a Debergh, 2008, s. 31; Jha a Ghosh, 2005, s. 50).

3.2.5 Komerční využití mikropropagace

Objevení procesu mikropropagace umožnilo vědcům vyvíjet různé protokoly na mikropropagaci jak krytosemenných, tak nahosemenných rostlin. Tyto protokoly vyvinuté v laboratořích mohou sloužit ke komerční produkci užitkových, okrasných či ohrožených druhů rostlin. Komercializace procesu mikropropagace se začala plně rozvíjet během posledních tří desítek let, a to zejména jako nástroj pro propagaci

rostlin, pro uvedení nových kultivarů na trh a jako předmět výzkumu. Díky této technice, je trh s rostlinami zásobován klonovými novými hybridy, které jsou schopné být vyprodukované v relativně krátké době od jejich vyšlechtění (Jha a Ghosh, 2005, s. 52).

Nejdůležitějšími aspekty komerční mikropropagace jsou ekonomické výdaje potřebné k celému procesu a cena rostlin, které jsou takto vyprodukované. Jelikož největší díl výdajů tvoří náklady na pracovní sílu (50-85 % z celkových výdajů), podle Jha a Ghoshe (2005, s. 53-54) by mohlo náklady snížit používání bioreaktorů. Regenerace rostlinných orgánů, jako jsou výhonky, cibule, mikrohlízy či embrya může probíhat v reaktorech vyrobených z oceli, skla nebo plastu, které mohou mít objem od 2 l, ale mohou dosahovat až 20 000 l objemu. Používání těchto reaktorů napomáhá ke snížení potřebné práce, k nižším nákladům a také snižuje riziko kontaminace regenerantů. Pro představu, dle Jha a Ghoshe (2005, s. 53) jeden bioreaktor o objemu 10-50 l nahradí 100-500 jednotlivých kultivačních nádob, jako jsou například erlenmeyerovy baňky.

3.2.6 Rostlinné druhy využívané k mikropropagaci

Mikropropagace slouží k množení a uchování genetického materiálu mnoha druhů jak okrasných či léčivých rostlin, tak i mnoha druhů dřevin (Dunwell, 2010, s. 317; Ponmurugan and Kumar, 2011, s. 64).

Z okrasných rostlin, je mikropropagace využívána například pro produkci frézií (*Freesia*), pelargonii (*Pelargonium*), begónií (*Begonia*), gerber (*Gerbera*), afrických fialek (*Saintpaulia*), lilií (*Lilium*) či chryzantém (*Chrysanthemum morifolium*). Z užitkových rostlin byla *in vitro* propagace zkoumána například u kakaa (*Theobroma cacao*), tabáku selského (*Nicotiana rustica*), rýže (*Oryza*), slunečnice roční (*Helianthus annuus*), citrusů (*Citrus*), česneku (*Allium carinatum*), cibule (*Allium cepa*), brokolice (*Brassica oleracea* var. *botrytis italica*) či květáku (*Brassica oleracea* convar. *botrytis*). Mezi dřeviny, k jejichž pěstování se může využívat mikropropagace patří například meruňka (*Prunus armeniaca*), olivovník (*Olea europaea*), eukalyptus (*Eucalyptus grandis*), kaštan koňský (*Aesculus hippocastanum*) nebo ořešák vlašský (*Juglans regia*) (George a Debergh, 2008, s. 42-54). V tabulce 3 jsou uvedeny nejdůležitější příklady rostlinných druhů, které mohou být úspěšně množeny pomocí mikropropagace.

In vitro propagace je klíčová zejména pro množení orchidejí, jelikož tyto rostliny mají mikroskopická semínka, která ke klíčení potřebují symbiotickou mykorhizu, což velmi znesnadňuje jejich pěstování. Možná to je předurčilo k tomu, že byly první rostlinou, která byla namnožena *in vitro* ze semen a také rostlinou, která byla první namnožena vegetativně mikropropagací (Yam a Arditti, 2009, s. 1-56). Z 66 vegetativně množných rodů jsou nejdůležitější *Dendrobium*, *Cymbidium*, *Cattleya*, *Vanda*, *Oncidium* a *Aranda* (Jha a Ghosh, 2005, s. 44).

Tabulka 3: Nejvýznamnější rostlinné druhy množené pomocí mikropropagace

| | Rostliny běžně mikropropagované | | | |
|--------------------------|--|-----------------------------|-----------------------------|------------------|
| Dřeviny | <i>Eucalyptus</i> sp. | <i>Tectona grandis</i> | <i>Sequoia sempervirens</i> | |
| | <i>Pinus radiata</i> | <i>Pinus pinaster</i> | <i>Shorea robusta</i> | |
| | <i>Bauhinia</i> sp. | <i>Cassia fistula</i> | <i>Camellia sinensis</i> | |
| Ovocné stromy | <i>Citrus</i> sp. | <i>Malus</i> sp. | <i>Pyrus</i> sp. | |
| | <i>Prunus</i> sp. | <i>Papaya</i> sp. | <i>Musa</i> sp. | |
| | <i>Vitis</i> sp. | <i>Coffea arabica</i> | <i>Theobroma cacao</i> | |
| Okrasné rostliny | <i>Gladiolus</i> | <i>Fressia</i> | <i>Asparagus</i> | <i>Anthurium</i> |
| | <i>Allium</i> | <i>Lilium</i> | <i>Begonia</i> | <i>Gloxinia</i> |
| | <i>Carnations</i> | <i>Chrysanthemum</i> | Orchideje | <i>Petunia</i> |
| | <i>Bougainvillea</i> | <i>Passiflora</i> | <i>Caladium</i> | <i>Phlox</i> |
| | <i>Rhododendron</i> | <i>Tulipa</i> | <i>Ficus</i> | <i>Adiantum</i> |
| | <i>Asplenium</i> | <i>Davallia</i> | <i>Dracaena</i> | |
| Zeleniny a koření | <i>Apium</i> | <i>Brassica</i> | <i>Capsicum</i> | <i>Pisum</i> |
| | <i>Lycopersicon</i> | <i>Solanum</i> | <i>Zinger</i> | <i>Daucus</i> |
| Léčivé rostliny | <i>Atropa belladonna</i> | <i>Artemisia annua</i> | <i>Aloe</i> sp. | |
| | <i>Catharanthus</i> sp. | <i>Coleus forskohlii</i> | <i>Digitalis</i> sp. | |
| | <i>Ipecac</i> | <i>Rauwolfia serpentina</i> | <i>Solanum</i> sp. | |
| | <i>Urgenia</i> sp. | <i>Withania somnifera</i> | <i>Mentha</i> sp. | |

Zdroj: Jha a Ghoshe, 2005, s. 56

4 Praktická část

4.1 Zapojení praktické ukázky *in vitro* kultur do výuky

Komerční i vědecké laboratoře jsou vybaveny špičkovou technologií a moderními přístroji, aby bylo dosaženo aseptických podmínek a vysoké produkce *in vitro* regenerantů. Existují však návody, jak pěstovat *in vitro* kultury rostlin i v domácích podmínkách. Proto jsem se rozhodla zpracovat možnost praktické ukázky explantátových kultur během teoretické či praktické výuky, která by pomohla k lepšímu proniknutí do tématu a doplnila by vypracování pracovních listů.

Nejdůležitější věcí, která musí být zajištěna, je co nejsterilnější místo, ve kterém budeme s rostlinami manipulovat. Profesor Acram Taji (1996) pro tyto účely doporučuje akvárium, které se vysterilizuje. Oproti tomu Sarah Parrish (2019) doporučuje pouze vysterilizování pracovního místa alkoholem. Kromě sterilního prostředí je také nutné vysterilizovat nástroje a média, k čemuž je vhodný tlakový hrnec. Pro kultivaci rostlin výborně poslouží sklenice od dětských přesnídávek, které se spolu s papíry, na kterých budeme s rostlinami pracovat, vysterilizují v tlakovém hrnci. Dále potřebujeme již jen rukavice, pinzetu, skalpel a kahan s alkoholem, který použijeme k jejich sterilizaci (Taji, 1996).

Nezbytnou součástí celého procesu je příprava kultivačního média. Oproti vědeckým a komerčním laboratořím, kde se média vyrábí z přesně odvážených chemikálií či z předpřipravených směsí, v domácích podmínkách se dá příprava média značně zjednodušit. Ukázka přípravy média poskytne žákům lepší pochopení, jaké živiny rostliny potřebují, a to nejen ty pěstované v podmínkách *in vitro*. Složení základního média z běžně dostupných surovin podle Acrama Taji (1996) je popsáno níže:

- dva šálky dešťové vody;
- čtvrt šálku cukru;
- běžné NPK hnojivo (při poměru 10:10:10 – půl lžice hnojiva rozpustit v 1 litru vody a užít jeden šálek připraveného roztoku);
- půl 500 mg inositolové tablety;
- půl vitamínové tablety s thiaminem (může být použita libovolná multivitaminová tableta);

- 4 lžice agarových vloček;
- v případě potřeby kyselina citrónová nebo soda bikarbona na úpravu pH (médiu má mít pH 5-6 a k měření použijeme indikátorové pH papírky).

Tímto způsobem si žáci mohou společně s učitelem připravit kultivační médium, které se rozlijí do sklenic od dětských přesnídávek. V následující vyučující hodině, mohou žáci převést do *in vitro* podmínek vybrané rostliny. Velice vhodné je použití jak semínek rostlin, tak například použití pupenů keřů či stromů. To umožní žákům pozorovat rozdíly mezi růstem rostlinek ze semen či regenerací rostlin z pupenů. Při převodu rostlin do *in vitro* podmínek je důležitá povrchová sterilizace. K tomu postačí naředěné domácí bělidlo, do kterého se pupeny či semena na 10 až 20 minut namočí a pak se promyjí ve sterilní vodě (Taji, 1996). Takto převedené rostliny do sterilních sklenic s médiem se umístí na světlé čisté místo ve skleníku či ve třídě, kde žáci mohou pozorovat jejich růst a vývoj. Pokud to časová dotace dovolí, pokus nemusí být v této fázi ukončen, ale když rostliny vyrostou, mohou je žáci během jedné vyučovací hodiny seřezat a napasázovat na nové médium. Při této činnosti si žáci osvojí principy vegetativního množení a opět budou moci v následujících dnech pozorovat postup regenerace rostlinného materiálu.

Takto koncipovaná ukázka práce s *in vitro* kulturami rostlin zabere 2 až 3 vyučovací hodiny nebo 1 až 2 dny praktické výuky, podle toho, zda do pokusu zařadíme i napasázování rostlin. Během této ukázky mají žáci možnost hlouběji proniknout nejen do technologie pěstování rostlin *in vitro*, ale i prohloubit a prakticky aplikovat své znalosti z vegetativního množení i výživy rostlin a mají možnost pozorovat růst, vývoj a regeneraci rostlin.

4.2 Začlenění tematického celku do Školního vzdělávacího programu

Tematický celek byl zpracován do Školního vzdělávacího programu oboru Agropodnikání na Střední odborné škole Frýdek-Místek. Agropodnikání je čtyřletý obor s denní formou studia ukončený maturitní zkouškou. Absolvent tohoto školního vzdělávacího programu se kromě jiného uplatní ve státních a soukromých firmách zaměřených na zemědělskou prvovýrobu, ve službách pro zemědělství, ve šlechtitelských a semenářských podnicích jako technik (SOŠ Frýdek-Místek, 2012). Znalost biotechnologií a *in vitro* kultur umožní absolventovi větší rozhled a vyšší možnost uplatnění v této oblasti.

Tematický celek *in vitro* kultur by bylo vhodné vyučovat v rámci odborného předmětu Pěstování rostlin. Předmět je vyučován od prvního do čtvrtého ročníku s časovou dotací dvou hodin týdně. Tematický celek se shoduje s obecným cílem předmětu, kterým je mimo jiné seznámení s jednotlivými technologiemi kultivace nejdůležitějších pěstovaných plodin a jiných alternativních plodin a jejich způsobech využití. Z důvodu jednoduššího a správného porozumění tématu, by látka měla být zařazena až do čtvrtého ročníku, kde dle učebních osnov spadá do tematické oblasti Šlechtitelství a semenářství. Pro zvládnutí tematického celku *in vitro* kultur není zapotřebí vysoká časová dotace. Výklad spolu s ukázkou praktického využití explantátových kultur pomocí obrázků či videí pokryje jednu vyučovací hodinu. Druhá vyučovací hodina by měla být věnována opakování a upevnění učiva pomocí pracovních listů. V případě zapojení praktické ukázky *in vitro* kultur, může být tato hodina spojena se založením kultury. V tom případě by mezi tyto dvě jednotky bylo vhodné vložit jednu hodinu na přípravu a teorii kultivačních médií. To znamená, že látka pokrývá dvě vyučovací hodiny, v případě vynechání praktické ukázky nebo přenechání praktické ukázky na praxi, či tři vyučovací hodiny v případě začlenění praktické ukázky.

4.3 Pracovní listy z *in vitro* kultur rostlin

Pracovní list se skládá z devíti stránek formátu A4 a je rozdělen na dvě části. První část je určena k zápisu poznámek při výkladu učitele a druhá je určena k samostudiu.

První část pracovního listu je koncipována k tomu, aby si do ní žák mohl zapisovat informace během výkladu učitele, který by měl být doplněný o obrazovou či audiovizuální dokumentaci. Takto sestavený pracovní list by měl vést žáky k správnému a přehlednému zapisování poznámek. Navíc, jelikož nejdůležitější pojmy jsou v listu obsaženy, měl by předcházet zdoluhavému zapisování výkladu a pojmů ze strany žáka. Tím bude mít žák větší prostor k věnování své pozornosti výkladu látky a k vnímání obrazového materiálu, který by měl výklad doprovázet. Díky přehlednosti listu, je učitel schopen jednoduše a poměrně rychle zkontrolovat, jak si žáci během hodiny zápisky vedli a také bude mít jistotu, že má každý žák osnovu k případnému kvalifikačnímu prověřování žáků.

Oproti tomu, druhá část pracovních listů slouží k samostatné práci žáků. Pracovní listy obsahují osm různě koncipovaných otázek zaměřených na procvičení a upevnění probíraného tématu. Pracovní list je koncipován tak, aby žák dovedl uplatnit své znalosti na praktických příkladech. Druhá otázka je zaměřena na schopnost žáků vyhledávat informace v informačních zdrojích, což je klíčová kompetence žáků. Sedmá a osmá otázka se vztahují k základním pravidlům a zásadám bezpečné práce v laboratoři. Apelují na schopnost žáků správně porozumět zadanému textu, což je další klíčovou kompetencí žáků. Tento pracovní list je vhodný jak pro samostatnou práci žáků při hodině, tak může být použit pro samostatnou domácí práci. Vzhledem k složitějšímu charakteru tématu a k faktu, že se jedná spíše o látku rozvíjející, nedoporučila bych používat tyto pracovní listy ke kvalifikaci žáků.

PRACOVNÍ LIST

I. část

Zadání: pozorně poslouchejte výklad učitele a doplňte pracovní list tak, aby vám vznikl ucelený přehled k tématu *In vitro* kultur.

Název *in vitro* pochází z latiny a znamená

Rostlinné buňky jsou **totipotentní**, což znamená

In vitro kultury rostlin jsou využívány zejména k těmto účelům:

- mikropropagace;
- ozdravování rostlinného materiálu;
- využití přirozené variability i indukovaných změn a selekce materiálu;
- genetické manipulace;
- studium fyziologických procesů a vztahů;
- produkce sekundárních metabolitů.

Hlavními biologickými **kontaminanty** jsou a , proto se *in vitro* rostliny pěstují ve prostředí.

Základní složky média jsou:

| | Zástupci |
|--------------------------|----------|
| Makroelementy | |
| Mikroelementy | |
| Cukry | |
| Vitamíny | |
| Ztužovací činidla | |

K modifikaci růstu je velmi důležitá přítomnost **auxinů** a **cytokininů**, které způsobují:

| | Projevy |
|-------------------|---------|
| Auxiny | |
| Cytokininy | |

Mikropropagace slouží k namnožení velkého množství rostlin, k rychlejší produkci rostlin a k uchování genetického materiálu mnoha druhů rostlin. Celý proces mikropropagace je členěn do 5 stádií:

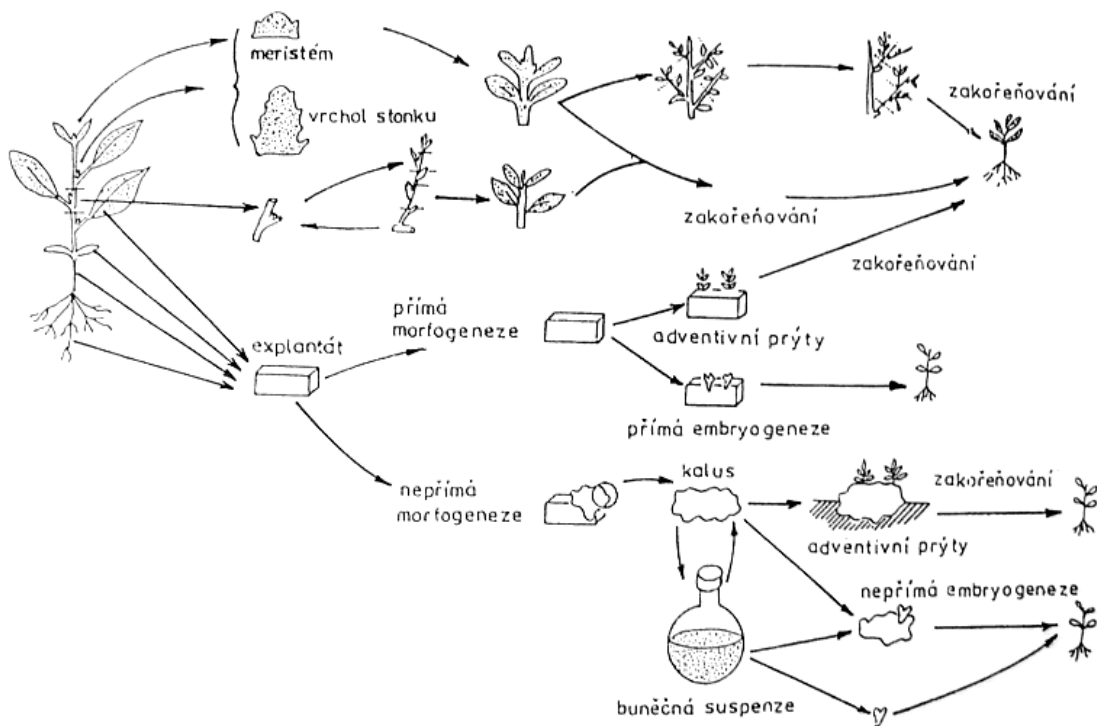
| Stádium | Název | Specifikace |
|-----------|---|-------------|
| Stádium 0 | Přípravné stádium | |
| Stádium 1 | Založení explantátové kultury | |
| Stádium 2 | Multiplikace | |
| Stádium 3 | Zakořenění rostlin | |
| Stádium 4 | Transfer do přirozených podmínek | |

Při mikropropagaci se rostliny množí, což umožňuje produkci velkého množství nových jedinců.

Metody množení rostlin *in vitro*:

- kultury vzrostných vrcholů, axilárních pupenů a nodů;
- tvorba adventivních pupenů a prýtlů přímo z buněk;
- nepřímá tvorba pupenů či embryí přes

Metody mikropropagace rostlin jsou názorně popsány v obrázku:



Zdroj: Šalvěj divotvorná, 2019

PRACOVNÍ LIST

II. část

Zadání: samostatně vyplňte pracovní list k tématu *In vitro* kultur.

1. Propojte jednotlivé buňky tak, aby bylo vždy správně číslo stádia, název a proces, který je během stádia prováděn.



2. Podívejte se na internet a vypište 6 rostlin, pro jejichž pěstování se často využívá metoda *in vitro* kultivace.

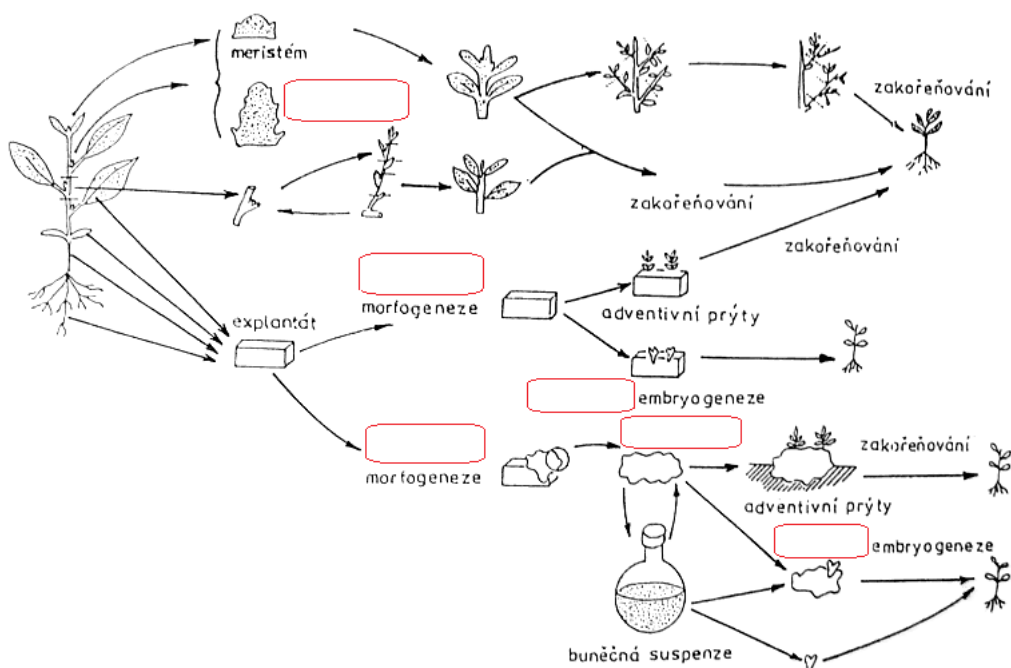
| | | |
|-------|-------|-------|
| _____ | _____ | _____ |
| _____ | _____ | _____ |

3. Prohlédněte si obrázky dvou rostlin Dvoukvětece zmarličníkolistého (*Disanthus cercidifolius*) a napište, na kterou rostlinu působil růstový regulátor auxin a na který růstový regulátor cytokinin.



Zdroj: Autor

4. Prohlédněte si obrázek a doplňte do prázdných míst správné pojmy.



Upraveno podle: Šalvěj divotvorná, 2019

5. Následující pojmy seřadte do grafu tak, jak jdou za sebou jednotlivé úkony v mikropropagačním procesu:

Prodlužování prýtů

Výběr média

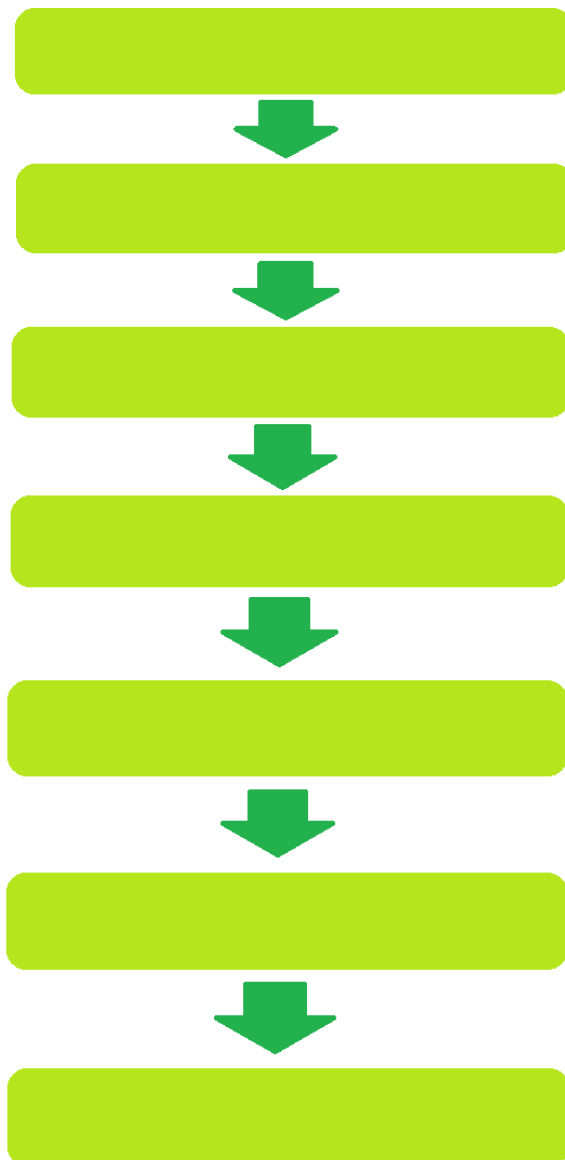
Výběr mateřské rostliny

Povrchová sterilizace

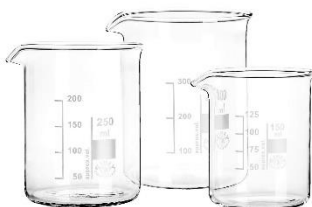
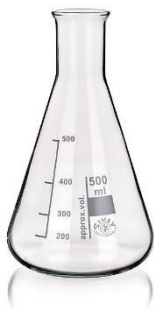
Zakořeňování

Transport rostlin na pole

Tvorba nových prýtů



6. Doplňte názvy přístrojů, nástrojů a laboratorního skla. Číslem 1 označte ty předměty, které se užívají při přípravě média, číslem 2 předměty na pasážování a kultivaci rostlin a číslem 3 předměty, které se uplatní ve všech fázích.



Zdroj: Verkon, 2019

7. Přečtěte si přílohu k pracovnímu listu a na jejím základě rozhodněte, jaká z deseti tvrzení jsou pravda a jaká nepravda.

| | Pravda | Nepravda |
|--|--------|----------|
| V laboratoři se pracuje vždy v rukavicích a v plášti. | | |
| Když si pečlivě umyjí ruce, tak mohou v laboratoři sníst svačinu. | | |
| Žíraviny by neměly být skladovány ve velkých výškách, abychom se pro ně nemuseli natahovat. | | |
| Kyselinu budu vždy nalévat do vody a ne opačně. | | |
| Jídlo si mohu uložit do nádob od chemikálií, musím je však vymýt čistícím prostředkem a opláchnout čistou vodou. | | |
| Když rozpouštím hydroxid, tak ho za stálého míchání pomalu zalévám vodou. | | |
| Láh nesmím nikdy nechat ležet v blízkosti plamene, hrozí totiž nebezpečí požáru. | | |
| Když mám chemikálii v nádobě, tak s ní vždy manipuluji tak, aby hrdlo směřovalo směrem ode mne. | | |
| Když se poliji chemikálií, tak si ruce pečlivě osuším ubrouskem nebo ručníkem. | | |
| K chemikálii přičichávám tak, že nad ní mávnu rukou a přivoním. | | |

8. Přečtěte si přílohu k pracovnímu listu a na jejím základě vhodně doplňte vynechaná pole v textu.

V laboratoři je důležité používat ochranné pomůcky. Mezi osobní ochranné pracovní pomůcky patří například
 Když pracujeme s lihem, tak používáme a nikdy ho neodkládáme do blízkosti
 Pokud se poliji chemickou látkou, tak si zasažené místo ihned
 V případě nutnosti je důležité znát telefonní čísla na záchranou službu, hasiče a na policii
 . Když si okamžitě nevybavím jejich telefonní čísla, nebo si nebudu jistý komu zavolat, tak se mohu obrátit na tísňové volání na čísla

Příloha k pracovnímu listu: Základní pravidla a zásady bezpečné práce v laboratoři, zpracované a upravené podle Školení BOZP a PO (2017)

V chemické laboratoři je zakázáno jíst, pít a kouřit. Je důležité, abyste pracovali soustředěně, uvážlivě a velmi opatrně. Před zahájením veškeré práce si vždy umyjte ruce mýdlem a vždy se podrobně seznamte s pracovním návodem, který se musí výhradně dodržovat. Důraz je kladen na dodržování vysokých požadavků na čistotu a hygienu. Používejte osobní ochranné pracovní pomůcky jako je pevná obuv, plášť, ochranné brýle, ochranné štíty a rukavice. Pokud máte dlouhé vlasy, je nutné, aby byly svázané nebo pod pokrývkou hlavy.

S chemickými látkami se nikdy nesmí manipulovat rukama, ale pouze čistými laboratorními pomůckami, jako jsou lžičky či špachtle. Nádoby, které jsou určené na chemikálie se nikdy nemohou používat na uskladnění potravin a vždy musí být označené. Žiraviny by neměly být skladovány ve větší výšce, než je výška vašich ramen. Důležité je pravidlo ředění kyselin: kyselina se vždy nalévá do vody nikoliv opačně. Stejně tak tuhý hydroxid se sype po malých dávkách do vody za neustálého míchání a nikdy se nelije voda na hydroxid. Když odšroubujete zátku z lahve s chemikálií, neměli byste ji odkládat na stůl, ale vždy ji držet v ruce a po použití nádobu hned uzavřít. Při práci s laboratorním sklem, které obsahuje chemické látky by hrdlo mělo vždy směřovat směrem od osob. Chemikálie se za žádných okolností nesmí ochutnávat a nikdy se k nim přímo nečichá, jen se zlehka přivoní mávnutím ruky. Pokud se pracuje s lihem, peroxidem vodíku, kyselinou octovou nebo vápennou vodou, vždy by měly být použity ochranné brýle. Líh, benzín a jiné hořlavé látky nikdy nesmí být odloženy v blízkosti plamene.

Rozlitá či vysypaná chemická látka musí být ihned uklizena a v případě zasažení rukou chemickou látkou, musí být ruce ihned opláchnuty vodou a umyty mýdlem. Velmi důležité je znát telefonní čísla na hasiče (150), záchrannou službu (155), policii (158) i na tísňové volání (112)!

5 Závěr

Hlavním cílem této závěrečné práce bylo začlenění nauky o *in vitro* kulturách rostlin do výuky na středních zemědělských školách. Teoretická část představuje didaktickou transformaci vybraných témat z oboru *in vitro* kultur z dostupných odborných zdrojů. Do praktické části práce je začleněna kapitola popisující zařazení praktické ukázky *in vitro* kultur do výuky. Součástí této části práce je také začlenění tematického celku do Školního vzdělávacího programu oboru Agropodnikání na Střední odborné škole Frýdek-Místek. Práce je doplněna o mnou sestavené pracovní listy, které téma vhodně doplňují a rozvíjí. Pracovní listy jsou originální, jelikož jsem nenašla žádný pracovní sešit nebo pracovní listy, které by pokrývaly tuto látku pro výuku na středních školách. Jelikož byly splněny všechny stanovené podcíle, tak se domnívám, že cíl této práce byl splněn.

Myslím, že začlenění tématu *in vitro* kultur do výuky na středních zemědělských školách obohatí studenty, rozšíří jejich obzor a pomůže jim při rozhodování ve výběru vysoké školy nebo zaměstnání. Pracovní listy budou užitečnou pomůckou při jejich výuce, které žákům pomohou vytvořit si ucelený přehled o tématu, upevní jejich znalosti a také jim studium tématu zpříjemní. Psaní této práce bylo velice přínosné i pro mě samotnou, jelikož jsem si sama vytvořila ucelený přehled znalostí, které v tomto oboru mám. Pokud se v budoucnu budu věnovat výuce na zemědělské střední škole, tak nauku o *in vitro* kulturách do svého vyučování určitě zařadím.

Seznam použitých zdrojů

ČERVENKOVÁ, Iva. *Výukové metody a organizace vyučování*. Ostrava: Ostravská univerzita v Ostravě, 2013. 152 s. ISBN 978-80-7464-238-8.

DEBERGH, P. C.; MAENE, L. J. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia horticultrae*, 1981, č. 4, s. 335-345.

DUNWELL, Jim M. Plant cell culture – present and future. In DAVEY, M.R. a ANTHONY, P., eds. *Plant cell culture: essential methods*. Hoboken: John Wiley & Sons, Incorporated, 2010, s. 317-331.

FANTOVÁ, Adéla. *Ekologické zemědělství v kontextu s poznatky moderní biologie rostlin-aktualizace středoškolského učiva biologie*. Praha: Univerzita Karlova v Praze, 2011. 40 s.

GEORGE, Edwin F.; DEBERGH P.C. Micropropagation: Uses and Methods. In GEORGE, E. F.; HALL, M. A. a DE KLERK, G. J., eds. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*. Dordrecht: Springer, 2008, s. 29–64. ISBN 978-1-4020-5004-6.

HÜBELOVÁ, Dana; NAJVAROVÁ, Veronika; CHÁROVÁ, Drahoslava. Uplatnění didaktických prostředků a médií ve výuce zeměpisu. In KNECHT, P.; JANÍK, T. a kol., eds. *Učebnice z pohledu pedagogického výzkumu*. Brno: Paido, 2008, s. 147-163. ISBN 978-80-7315-174-4.

JANÍK, Tomáš; NAJVAROVÁ, Veronika; NAJVAR, Petr; PÍŠOVÁ, Jana. Uplatnění didaktických prostředků a médií ve výuce fyziky (se zvláštním zřetelem k učebnicím). In: MAŇÁK, J. a KNECHT, P., eds. *Hodnocení učebnic*. Brno: Paido, 2007, s. 82-97. ISBN 978-80-7315-148-5.

JHA, Timir Baran a GHOSH, Biswajit. *Plant tissue culture, basic and applied*. India: Universities Press, 2005. 206 s. ISBN 81-7371-488-6.

KALHOUS, Zdeněk; OBST, Otto. *Školní didaktika*. Vyd. 1. Praha: Portál, 2002. 447 s. ISBN 807178-253-X.

Katedra experimentální biologie rostlin. KULTIVACE *IN VITRO*, Praktikum fyziologie rostlin. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy [online]. 2019 [cit.

- 2019-01-19]. Dostupné z: http://kfrserver.natur.cuni.cz/lide/edmunz/praktika_fr/mb130c14/navody/11_invitro.pdf.
- LERNER, Isaak Jakovlevič. *Didaktické základy metod výuky*. Praha: SPN, 1986. 165 s.
- MURASHIGE, Toshio. Plant propagation through tissue cultures. *Annual review of plant physiology*, 1974, č. 1, s. 135-166.
- MURASHIGE, Toshio; SKOOG, Folke. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 1962, č. 15, s. 473-497.
- MUŽÍK, Jaroslav. *Andragogická didaktika*. Codex Bohemia, 1998. 272 s. ISBN 80-85963-52-3.
- PARRISH, Sarah. How to Make a Plant Tissue Culture at Home. EHow [online]. 2019 [cit. 2019-01-21]. Dostupné z https://www.ehow.com/how_10039692_make-plant-tissue-culture-home.html
- PAVLOVÁ, Libuše. *Kultury rostlin in vitro*. Praha: Česká zemědělská universita v Praze, 1992. 81 s.
- PONMURUGAN, P.; KUMAR, S.K. *Applications of plant tissue culture*. New Delhi: New Age International, 2011. 222 s. ISBN 978-81-224-3499-6.
- PRŮCHA, Jan; WALTEROVÁ, Eliška; MAREŠ, Jiří a kol. *Pedagogický slovník*. Vyd. 4. Praha: Portál, 2003. 324 s. ISBN 80-7178-722-8.
- REED, Barbara M. a kol. *Technical guidelines for the management of field and in vitro germplasm collections*. Řím: IPGRI, 2004. 106 s. ISBN 92-9043-640-9.
- Střední odborná škola Frýdek-Místek. Školní vzdělávací program Agropodnikání. Frýdek-Místek: SOŠ Frýdek-Místek, 2012. 195 s.
- ŠALVĚJ DIVOTVORNÁ. Množení Šalvěje divotvorné pomocí tkáňových kultur [online]. 2019 [cit. 2019-01-20]. Dostupné z http://salvej-divotvorna.info/www/salvej_divotvorna_tkanove_kultury_explantaty.php

Sdělení č. 134/1999 Sb. Zákony pro lidi [online]. © 2010-2019 [cit. 2019-02-04]. Dostupné z: <https://zakonyprolidi.cz/cs/1999-134/historie>

ŠIMIK, Ondřej. Žák v páté třídě jako řešitel přírodovědného pokusu–analýza pracovních listů žáků. In: JANÍK, T.; KNECHT, P.; ŠEBESTOVÁ, S, eds. *Smíšený design v pedagogickém výzkumu: sborník příspěvků z 19. výroční konference České asociace pedagogického výzkumu*. Brno: Masarykova univerzita, 2011, s. 461-466.

Školení BOZP a PO. BOZP v chemické laboratoři: zákonné požadavky, základní pravidla a zásady bezpečnosti práce. Bezpečnost práce.info [online]. 2017 [cit. 2019-01-28]. Dostupné z <https://www.bezpecnostprace.info/skoleni/bozp-chemicka-laborator/>

TAJI, Acram. Plant Tissue Culture for Home Gardeners. University of New England [online]. ©1996 [cit. 2019-01-21]. Dostupné z: <https://web.archive.org/web/20071013062704/http://une.edu.au/agss/hort/horticultural-science.php>

THORPE, Trevor A. *History of plant tissue culture*. Molecular Biotechnology, 2007, č. 37, s. 169-180.

TYMRÁKOVÁ, Iva; JEDLIČKOVÁ, Helena; HRADILOVÁ, Lenka. Pracovní list a tvorba pracovního listu pro přírodovědné vzdělávání. In MATEJOVIČOVÁ, B. a SANDANUSOVÁ, A., eds. *Metodologické aspekty a výzkum v oblasti didaktik přírodovědných, zemědělských a příbuzných oborů: sborník mezinárodní konference v Tatranské Štrbě*. Nitra: Přírodovědec č. 171, 2005, s. 87-91. ISBN 80-8050-848-8.

VERKON. E-shop. Verkon [online]. © 2009-2019 [cit. 2019-01-29]. Dostupné z: <https://www.verkon.cz/>

YAM, Tim Wing; ARDITTI, Joseph. History of orchid propagation: a mirror of the history of biotechnology. *Plant Biotechnology Reports*, 2009, č. 3, s. 1-56.

Seznam tabulek

| | |
|--|----|
| Tabulka 1: Uplatnění didaktických prostředků a médií v jednotlivých výukových formách..... | 6 |
| Tabulka 2: Předpis na přípravu MS média..... | 11 |
| Tabulka 3: Nejvýznamnější rostlinné druhy množené pomocí mikropropagace..... | 16 |

Seznam obrázků

| | |
|---|----|
| Obrázek 1: Metody mikropropagace rostlin podle George a Sherringtona, 1984..... | 13 |
|---|----|