



Univerza v Mariboru

Fakulteta za naravoslovje  
in matematiko

# Laboratorijski priročnik za delo z rastlinskimi tkivnimi kulturami, s poudarkom na mikropropagaciji

Laboratorij za fiziologijo rastlin



**Avtorica:**

dr. Jana Ambrožič-Dolinšek



Univerzitetna založba  
Univerze v Mariboru



# Laboratorijski priročnik za delo z rastlinskimi tkivnimi kulturami, spoudarkom na mikropropagaciji

Laboratorij za fiziologijo rastlin

Avtorica:

dr. Jana Ambrožič-Dolinšek

Avgust 2017

- Naslov:** Laboratorijski priročnik za delo z rastlinskimi tkivnimi kulturami, s poudarkom na mikropropagaciji
- Podnaslov:** Laboratorij za fiziologijo rastlin
- Avtorica:** doc. dr. Jana Amrožič-Dolinšek (Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko)
- Strokovna recenzija:** izr. prof. dr. Metka Šiško (Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede)  
doc. dr. Andreja Urbanek Krajnc (Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede)
- Jezikovna recenzija:** Mojca Garantini, univ. prof. slov. j. in knjiž.
- Oblikovanje ovitka:** Jan Perša, mag. inž. prom. (Univerzitetna založba Univerze v Mariboru)
- Prelom in oblikovanje:** doc. dr. Jana Amrožič-Dolinšek (Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko)
- Avtorica fotografij:** asist. dr. Terezija Ciringer (Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko)
- Avtorica slik:** doc. dr. Jana Amrožič-Dolinšek (Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko)

**Izdajateljica:**

Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko  
Koroška cesta 160, 2000 Maribor, Slovenija  
tel. +386 2 22 93 844, faks +386 2 25 18 180  
<http://www.fnm.um.si/>, [dekanat.fnm@um.si](mailto:dekanat.fnm@um.si)

**Založnik:**

Univerzitetna založba Univerze v Mariboru  
Slomškov trg 15, 2000 Maribor, Slovenija  
tel. +386 2 229 38 44, faks +386 2 251 81 80  
<http://press.um.si>, [zalozba@um.si](mailto:zalozba@um.si)

**Naklada:** 50

**Tisk:** Tiskarna Saje d. o. o.

**Izid:** Avgust 2017

**© Univerzitetna založba Univerze v Mariboru**

Vse pravice pridržane. Brez pisnega dovoljenja založnika je prepovedano reproduciranje, distribuiranje, predelava ali druga uporaba tega dela ali njegovih delov v kakršnemkoli obsegu ali postopku, vključno s fotokopiranjem, tiskanjem ali shranjevanjem v elektronski obliki.

CIP - Kataložni zapis o publikaciji  
Univerzitetna knjižnica Maribor

**ISBN:** 978-961-286-072-1

**DOI:** <https://doi.org/10.18690/978-961-286-072-1>

**Cena:** 10,00 €

**Odgovorna oseba založnika:** prof. dr. Igor Tičar, rektor Univerze v Mariboru

**Laboratorijski priročnik za delo z rastlinskimi tkivnimi kulturami, s poudarkom na mikropropagaciji / Laboratorij za fiziologijo rastlin /**

**Povzetek:**

Laboratorijski priročnik je namenjen tistim, ki vstopajo v svet rastlinskih tkivnih kultur in delujejo na področju rastlinske biotehnologije. Nastal je za potrebe študijskega procesa in predmetov, povezanih z rastlinskimi tkivnimi kulturami in mikropropagacijo. Odgovoril bo na vprašanja: »Kaj je tkivna kultura? Kako poteka pri rastlinah? Ali je mikropropagacija nekaj, kar zmorem in znam narediti? In kako naj se tega lotim?«. Predstavljene so osnovne tehnike s primeri. Priložen je terminološki slovar z definicijami izrazov uporabljenih v besedilu.

Ključne besede: laboratorijski priročnik, rastline, tkivne kulture, mikropropagacija

**Laboratory manual for plant tissue culture, with an emphasis on micropropagation / Laboratory for plant physiology /**

**Abstract:**

The laboratory manual was prepared for those who are entering the world of plant tissue culture and starting to work in this field of plant biotechnology. It is devoted to the study process and subjects associated with plant tissue culture and micropropagation. It will answer the following questions: "What is tissue culture? How it is connected with plants? Is micropropagation something I can do and that I know how to do? How do I deal with this?" The basic techniques are introduced, along with examples. It includes a terminology glossary with definitions of the terms used in the text.

Key words: laboratory manual, plant, tissue culture, micropropagation

## KAZALO VSEBINE

SPREMNA BESEDA .....	iii
1 PREDSTAVITEV TEHNIKE TKIVNE KULTURE IN MIKROPROPAGACIJE .....	1
1.1 Pregled in značilnosti tehnike tkivnih kultur in gojenja <i>in vitro</i> .....	2
1.1.1 Dejavniki gojenja rastlin v tkivni kulturi .....	2
1.1.2 Zgoraj naštetih dejavnikov morajo omogočati morfogogenetske procese:.....	3
1.1.3 Celična totipotentnost in regeneracija rastlin.....	3
1.1.4 Ko je vcepek v tkivni kulturi, sledi organizirana ali neorganizirana rast.....	4
1.1.5 Uravnavanje organogeneze.....	4
1.2 Sistemi mikropropagacije .....	6
1.2.1 Tkivne kulture lahko imenujemo glede na to, kateri izseček uporabimo kot vcepek .....	8
1.3 Stopnje mikropropagacije .....	12
1.3.1 Selekcija – izbor in priprava matičnih rastlin (Stopnja 0) .....	12
1.3.2 Inicijacija - vzpostavljanje sterilne kulture (Stopnja 1).....	12
1.3.3 Multiplikacija - razmnoževanje rastlin do zelenega števila (Stopnja 2) .....	13
1.3.4 Elongacija - podaljševanje brstov v poganjke, ukoreninjanje, priprava za prenos v naravne <i>ex vivo</i> razmere (Stopnja 3).....	13
1.3.5 Aklimatizacija - prenos rastlin v zemljo, v nesterilne naravne razmere in postopno prilagajanje na manjšo vlažnost (Stopnja 4).....	13
2 SPLOŠNA METODOLOGIJA.....	14
2.1 Laboratorij: načrtovanje, pripomočki, oskrba .....	14
2.2 Aseptična tehnika dela .....	15
2.2.1 Parni sterilizator .....	15
2.2.2 Brezprašna komora - laminarij .....	19
2.2.3 Vzdrževanje čistoče .....	20
2.2.4 Sterilizacija orodja .....	20
2.2.5 Sterilizacija gojišč.....	21
2.2.6 Sterilizacija rastlinskega materiala (glejte tudi poglavje 2.3 Priprava gojišč).....	21
2.2.7 Rastna komora.....	22
2.2.8 Po koncu kulture.....	23
2.2.9 Omejitve pri delu.....	23
2.3 Priprava gojišč .....	24
2.3.1 Priprava koncentriranih osnovnih raztopin (OR).....	24
2.3.2 Priprava gojišč - splošni postopek .....	30
2.3.3 Protokol za pripravo gojišča za tkivno kulturo .....	32

2.4	Splošni napotki za vzpostavljanje (iniciacija) kulture, prestavljanje (subkultivacija) in prenos v zemljo (aklimatizacija) .....	33
2.4.1	Splošni postopek za varno delo v brezprašni komori .....	33
2.4.2	Splošni postopek za vzpostavljanje - iniciacijo kulture.....	34
2.4.3	Prenos rastlin <i>ex vitro</i> - aklimatizacija .....	34
3	Protokoli za mikropropagacijo nekaterih rastlinskih vrst.....	36
4	Splošna literatura: .....	41
5	Priloge.....	42
6	Terminološki slovar TKIVNE KULTURE .....	47
	KAZALO SLIK.....	52
	KAZALO PREGLEDNIC.....	53