

DATUM:

JMÉNO:

TÉMA: **Mikropropagace *Saintpaulia ionantha* Wendl.
Pasážování kultury („subculture“)**

MATERIÁL: kultura různých kultivarů africké fialky *Saintpaulia ionantha* Wendl.

POMŮCKY:

MÉDIUM: **MS-1** základní soli, vitamíny B5, sacharóza 20 g.l⁻¹, agar 6,5 g.l⁻¹, pH 5,8

POSTUP PRÁCE:

1. Kultivační nádoby s kulturami přeneseme z kultivační místnosti do laminárního boxu v transferové místnosti.
2. Připravíme si kultivační nádoby s čerstvým médiem a ostatní pomůcky.
3. Přetřeme pracovní plochu 70% ethanolem.
4. Opatrně ožiháme okraj kultivační nádoby a otevřeme ji. Uzávěr odkládáme stranou svrchní stranou na pracovní plochu.
5. Sterilní pinzetou vyjmeme explantáty na sterilní Petriho misku.
6. Odřízneme nekrotizované bazální části explantátů, oddělujeme jednotlivé prýty a jejich izolované apikální části s několika listy vsadíme do čerstvého média. Sortujeme prýty podle velikosti do různých kultivačních nádob.
7. Po inokulaci explantátů znovu opatrně ožiháme okraj kultivační nádoby a uzavřeme ji kovovým uzávěrem s ventilací.
8. **Zapišeme číslo kultury** a datum subkultivace, lze připojit jméno nebo značku studenta.
9. Kultivujeme v kultivační místnosti na světle (studené bílé zářivky, fotoperioda 16/8, PAR 30 nebo 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$) při 22°C po dobu 4 týdnů.

HODNOCENÍ

V následujících týdnech kontrolujeme čistotu kultur a růst a rozvoj explantátů.

POZNÁMKA:

V případě, že chceme převádět regenerované rostliny do nesterilních podmínek, je vhodné nechat je několik týdnů zakořenit na médiu s nižší koncentrací minerálních látek (např. 1/3 MS-1). Zakořeňování izolovaných prýtů zlepšuje i přidavek aktivního uhlí do média.