

DATUM:

JMÉNO:

TÉMA: **TESTOVÁNÍ BAKTERIÁLNÍ A HOUBOVÉ KONTAMINACE KULTUR EXPLANTÁTŮ**

MATERIÁL: Nodální segmenty kultur prýtů brambor, tabáku, karafiátů a maliníku, apod.

Přítomnost latentních mikroorganismů v kultuře *in vitro* ovlivňuje její růst a vývoj, množitelý koeficient i aklimatizaci. Při kultivaci na klasických médiích používaných pro explantáty se kontaminace nemusí vždy projevit. Segmenty nebo prýty kultivovaných kultur se proto testují na různých selekčních médiích, které jsou pro rozvoj mikroorganismů příhodnější.

Kultivací nodálních segmentů a prýtových disků kultur na širokospektrém médiu Leifert and Waites Sterility Test Medium (Leifert *et al.* 1989) nebo na médiu B523 (Viss *et al.* 1991) zjišťujeme bakteriální kontaminaci kultur.

MÉDIA:

Petriho misky s médiem **B523** (kaseinhydrolyzát 8 g.l⁻¹, MgSO₄ · 7 H₂O 0,15 g.l⁻¹, K₂HPO₄ 2 g.l⁻¹, kvasničný extrakt 4 g.l⁻¹, sacharosa 10 g.l⁻¹, agar 10 g.l⁻¹)

kontrola: udržovací MS medium bez růstových regulátorů (**MS-1**)

POSTUP:

1. Vyjmi prýty sterilní pinzetou z kultivační lahve a polož je na sterilní Petriho misku v aseptických podmínkách laminárního boxu.
2. Odděl apikální segmenty prýtů a inokuluj je do udržovacího média pro další kultivaci.
3. Rozřež zbylé prýty na jednotlivé nodální segmenty a tenké řezy.
4. Do agarového B523 média zanoř segment (řez), pomalu jej vytáhni, polož na povrch media a misku uzavři. Tímto postupem se inokulují i spodní vrstvy media s nízkou koncentrací O₂, která podporuje růst některých mikroorganismů.
5. Stejným způsobem inokuluj kontrolní misku s udržovacím M-S médiem.
6. Popiš misky s odpovídajícími segmenty, disky a apikálními segmenty prýtů.
7. Inkubuj inokulované Petriho misky ve tmě při 22-30°C po 3 týdny.

HODNOCENÍ

V následujících týdnech kontrolujte čistotu kultur.

Kolonie na povrchu pevného média nebo halo v médiu indikují přítomnost kultivovatelných mikroorganismů v kultuře.

Porovnejte kontaminaci odpovídajících testovaných kultur na testovacím médiu B523 a na MS-1 médiu.

Zapište výsledky.

LITERATURA:

Leifert *et al.* (1989): J. Appl. Bacter. 67: 351 – 361.

Viss *et al.* (1991): In Vitro Cell Dev. Biol.-Pl. 27P,42.