



## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

TENTO PROJEKT JE SPOLUFINANCOVÁN EVROPSKÝM SOCIÁLNÍM FONDEM  
A STÁTNÍM ROZPOČTEM ČESKÉ REPUBLIKY

**Jméno:** **Datum:**

### **Téma 05: Mikropropagace bylin - iniciace kultury**

**Materiál:** listy africké fialky (*Saintpaulia ionantha* Wendl.), tořivky (*Streptocarpus hybridus*), rhizomy *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott, květní stonky *Phalaenopsis* Blume, apod.

**Pomůcky:** vypsat

**Média:** M-S základní soli, B5 vitamíny, sacharóza  $20 \text{ g.l}^{-1}$ , BA  $1 \text{ mg/l}$ , NAA  $1 \text{ mg/l}$ , agar  $5,5 \text{ g.l}^{-1}$ , pH 5,7

#### **Postup práce:**

1. Čerstvě odebrané rostlinné orgány opláchneme destilovanou vodou – omytí hrubších nečistot z povrchu
2. Desinfekce v laminárním boxu: v 70% etanolu 30 sekund - 1 minuta
3. Desinfekce v 15% roztoku SAVO v SDV (v/v) 15 minut (třepačka)
4. 3x po dobu 3 minut oplach SDV
5. Přenos desinfikovaných materiálů do sterilní Petriho misky
6. Z listů sterilně vyřízneme segmenty čepele o průměru asi 1 cm, u segmentů rhizomů odřízneme asi 0,5 cm od řezné plochy, ze stonků orchideje nařežeme nodální segmenty s axilárním pupenem.
7. Inokulace segmentů na povrch agarového média F1 (M-S, 2% sacharóza,  $1 \text{ mg/l}$  NAA,  $1 \text{ mg/l}$  BAP, 0,65% agar) **svrchní epidermis na povrch media.**
8. Zaznamenáme si počet segmentů v kultuře (v kultivační nádobě a počet nádob).

#### **Hodnocení**

V následujících týdnech kontrolujeme čistotu kultur a vyhodnotíme četnost segmentů, na kterých došlo k přímé organogenezi nebo iniciaci tvorby kalusu a organogenezi nepřímé. Vyhodnotíme rovněž množitelský koeficient.

#### **Literatura**

Warburton, J., Grout, B.W.W. and Short, K.C. (1984): In vitro selection for cold tolerant lines of *Saintpaulia ionantha* (Wendl.).- In: "Plant Tissue and Cell Culture - Applications to Crop Improvement" edited by F. Novák, L. Havel and J. Doležel, pp. 355-357, ČSAV, Praha.

Grout, B.W.W. (1990): African violet. - In: Handbook of Plant Cell Culture. Vol.5. (Eds.): P.V. Ammirato, D.A. Evans, W.R. Sharp and Y.P.S. Bajaj. McGraw-Hill, Inc, pp. 181-205.

Khan, S., S. Naz, K. Ali (2007): Callus induction, plant regeneration and acclimatization of African violet (*Saintpaulia ionantha*) using leaves as explants. - Pak. J. Bot., 39(4): 1263-1268.