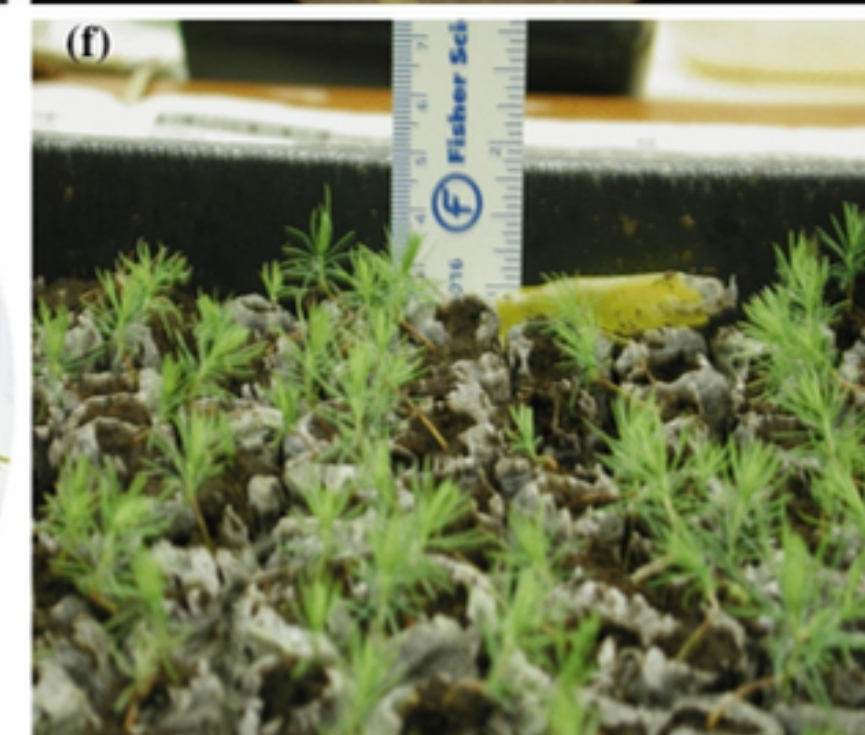
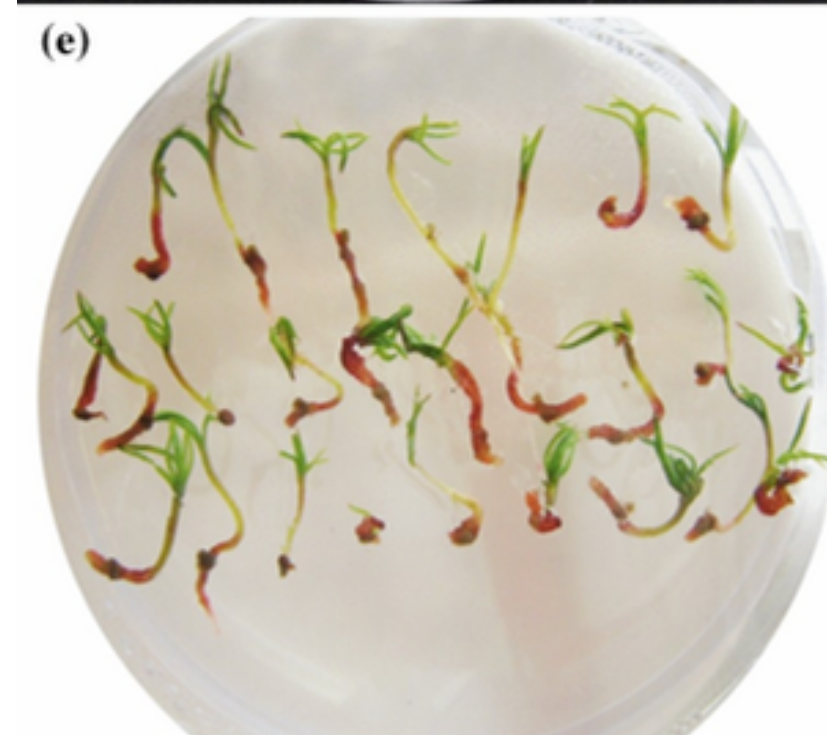
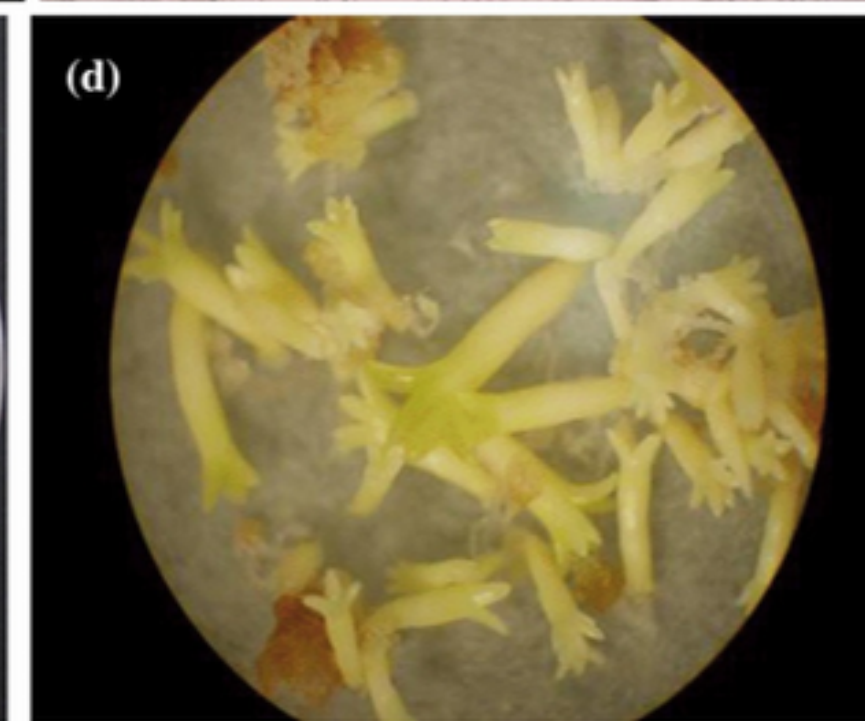
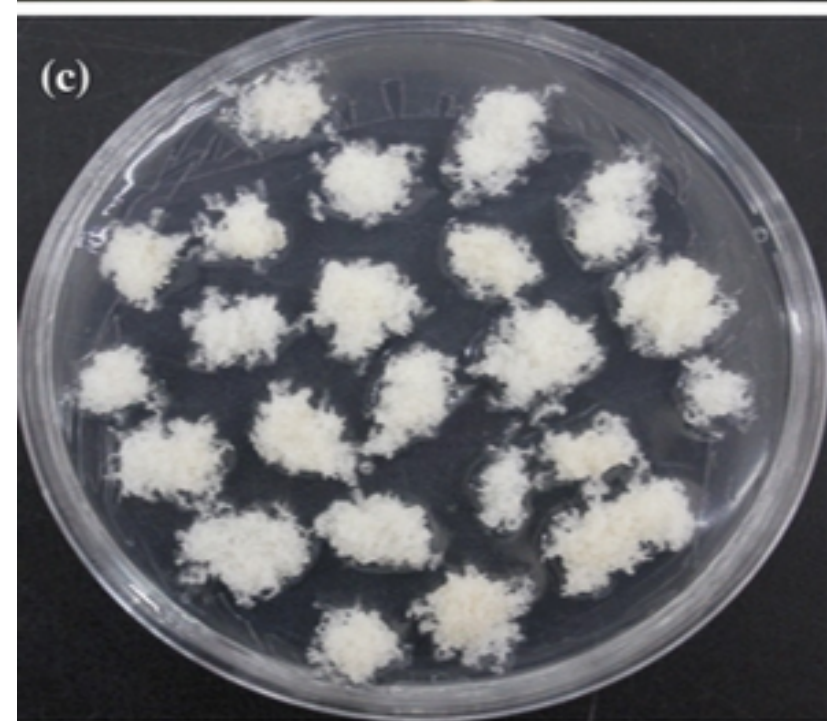
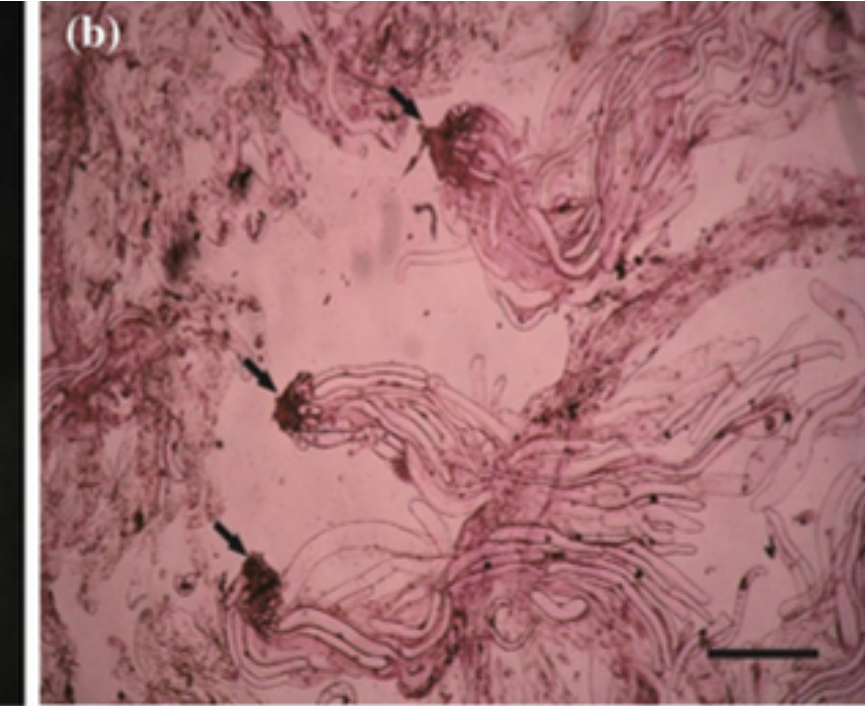
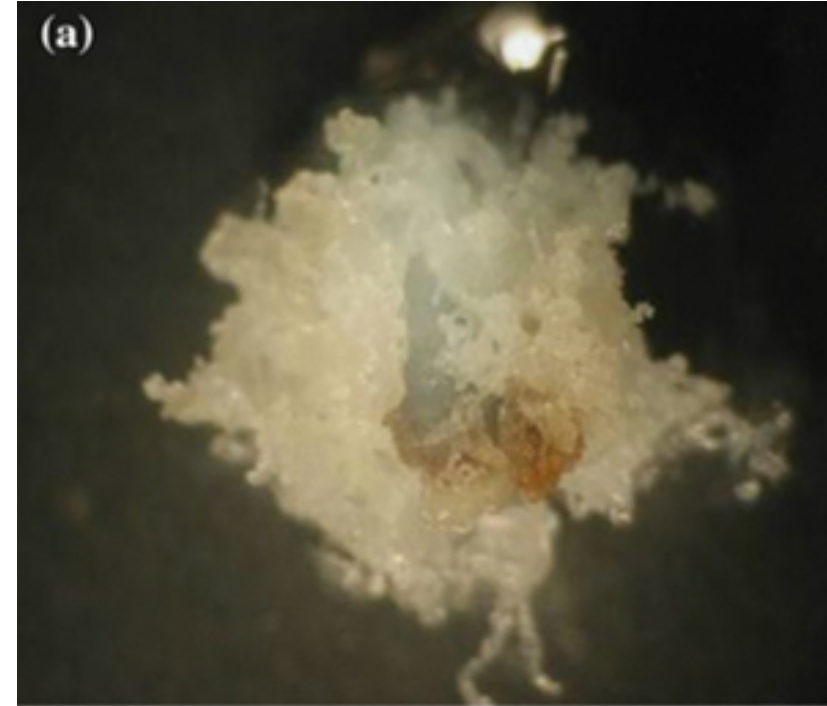


IN VITRO TECHNIKY V ROSTLINNÉ EMBRYOLOGII

ROSTLINNÁ EMBRYOLOGIE, PODZIM 2023, H. CEMPÍRKOVÁ

Cíle →
přednášky

- popsat možnosti využití technik rostlinných tkáňových kultur při studiu ontogeneze rostlin se zaměřením na rostlinnou embryogenezi
- popsat techniku kultivace izolovaných embryí, uvést příklady využití
- popsat a vysvětlit procesy spojené se somatickou embryogenezí
- popsat aplikační potenciál těchto technik pro zemědělství a biotechnologie



Rostlinné tkáňové kultury

Sterilní prostředí:

- sterilizace a desinfekce nástrojů i rostlinného materiálu
- práce v laminárních boxech

- axenické a aseptické
- speciální složení živných médií (tekutá, ztužená)
- kultivace v kontrolovaných podmínkách



Využití rostlinných tkáňových kultur



KULTURY IZOLOVANÝCH EMBRYÍ

Izolace nezralých i zralých embryí, možnost překonání dormance...



SOMATICKÁ EMBRYOGENEZE

Tvorba geneticky identických jedinců.

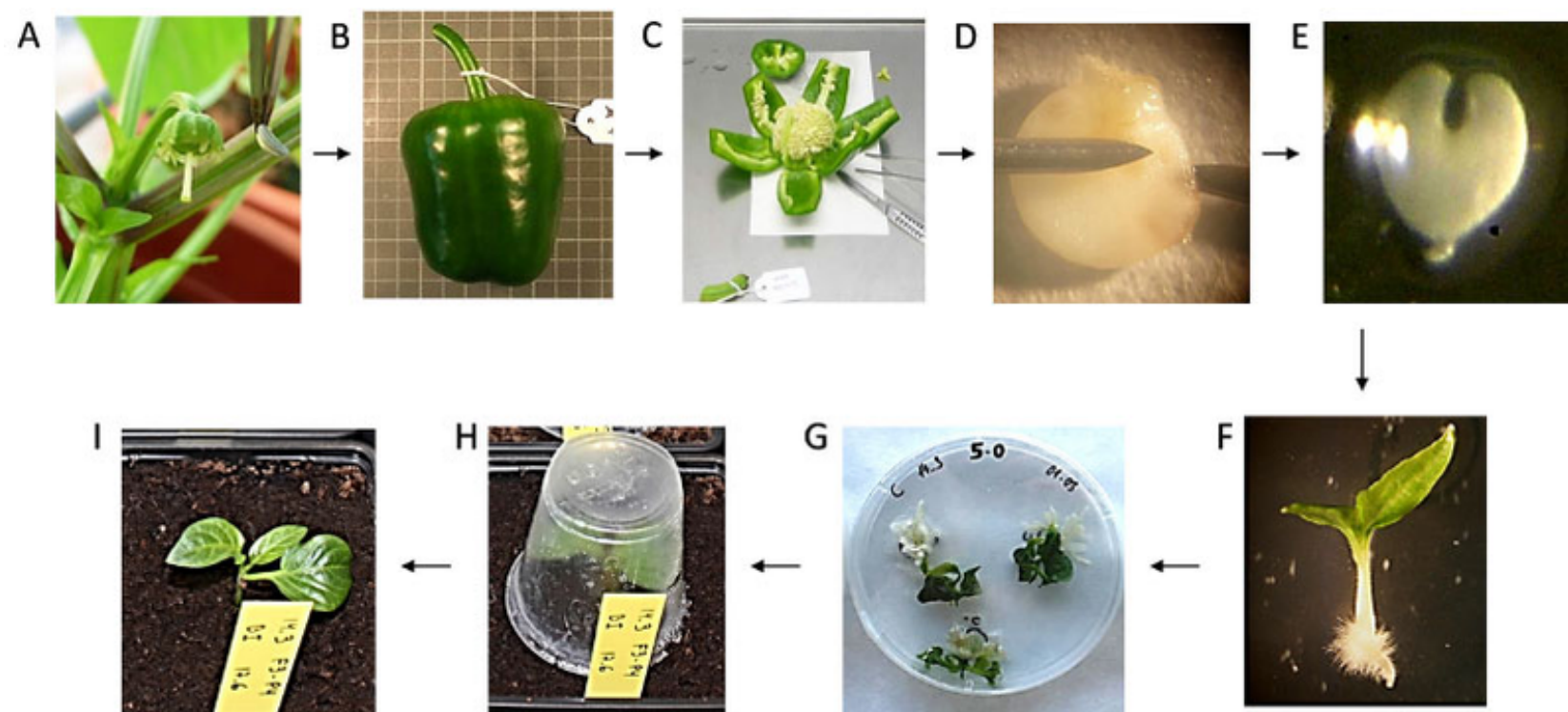


KALUS, BIOTECHNOLOGIE

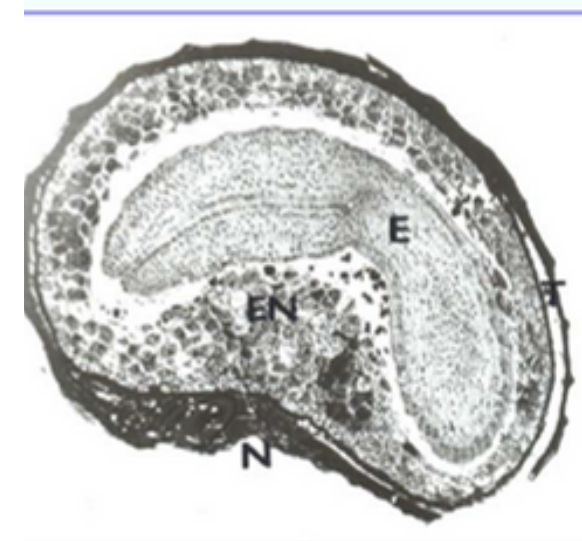
Regenerace rostlin při genetické manipulaci.

Kultury izolovaných embryí

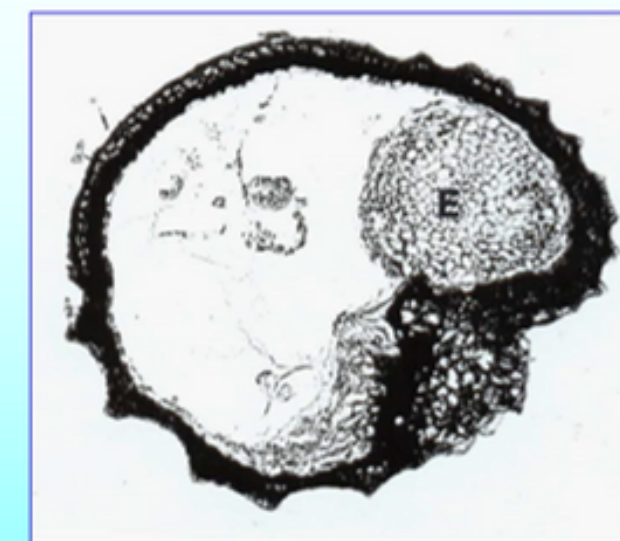
- Aseptické vyjmutí embrya a jeho přenos do vhodného embrya a optimálních kultivačních podmínek
- relativní snadnost získání embryí bez patogenů (povrchová desinfekce semen nebo plodů)
- výběr média - čím mladší embryo, tím vyšší nároky



Překonávání aborce embryí po opylování *in vitro*

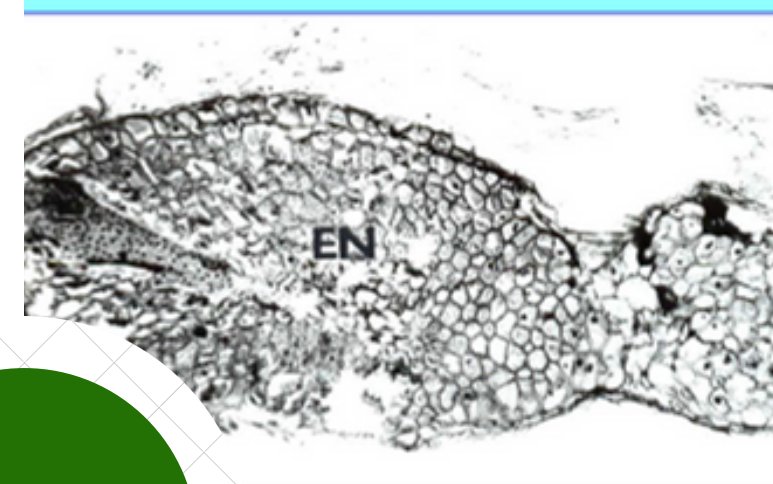


9 MC



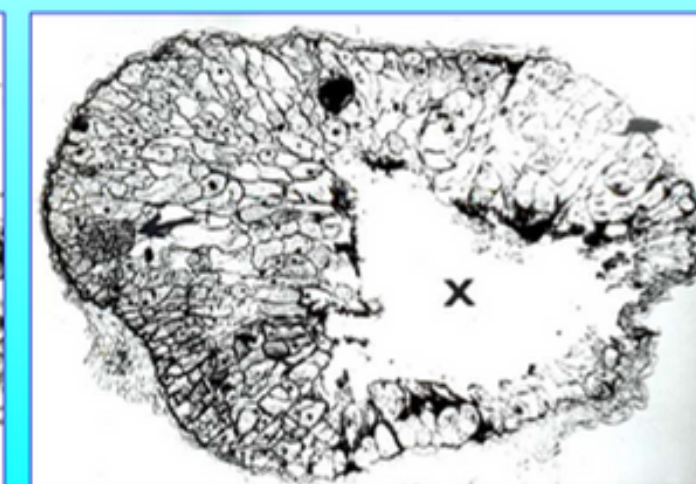
Papaver

35 DC



Galan

60 DC

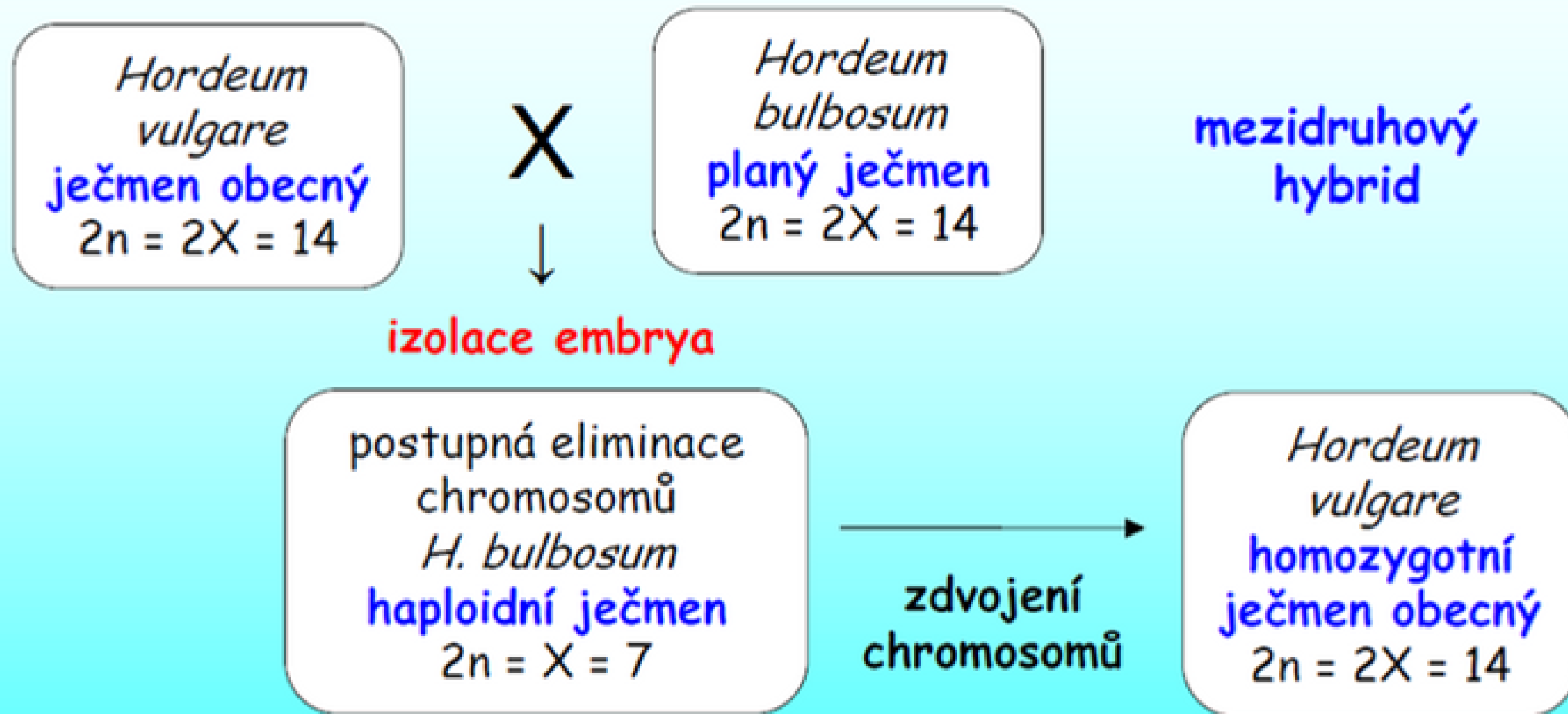


Využití

- Překonání dormance semen
- Překonání aborce embryí ("embryo rescue") po křížení *in situ* nebo *in vitro*
- monoploidní ječmen
- studium embryogeneze
- zdroj mladého materiálu pro mikropropagaci

Figure 1 – Diagram of the *in vitro* culture technique in California Wonder embryos: A) self-pollination, B) immature fruit just harvested opening, C) fruit and seed sterilization. D-E) embryo excision, stage identification and *in vitro* sowing. F) embryo development and germination. G) plantlet

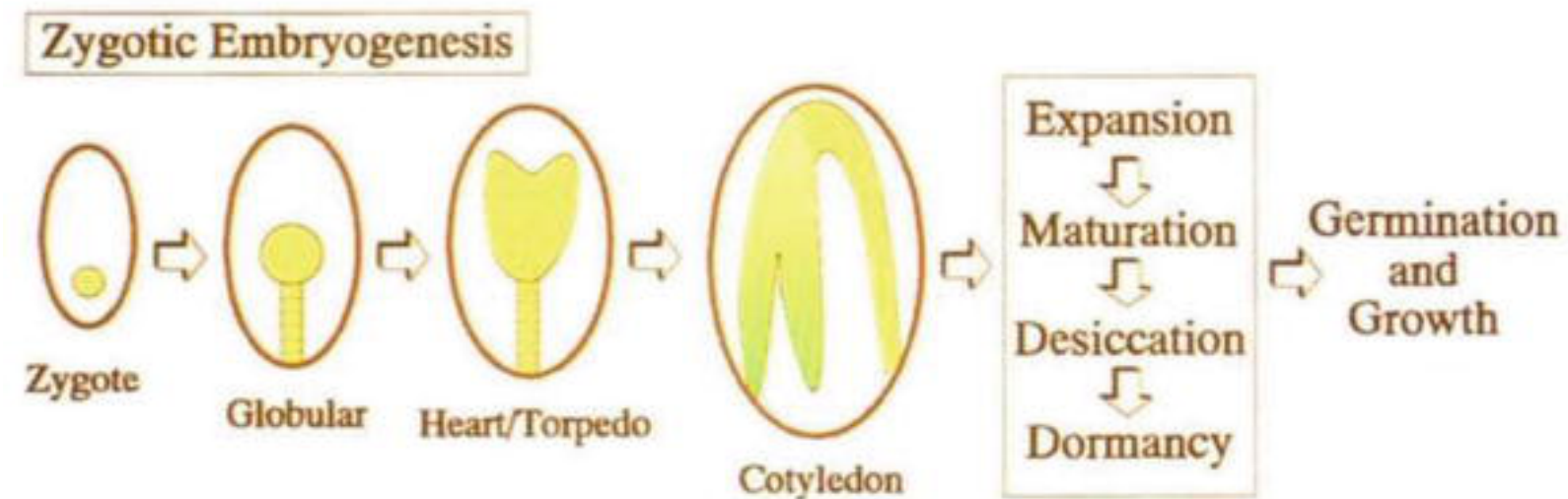
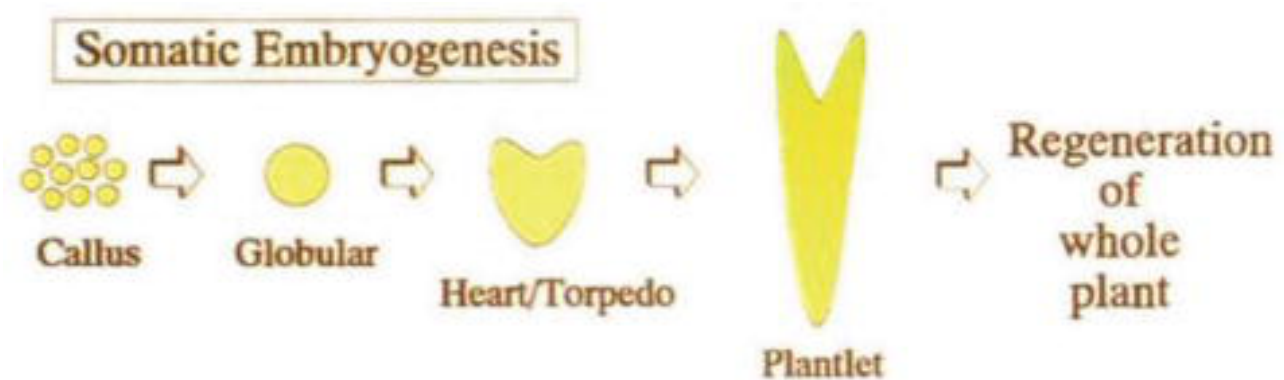
Hordeum bulbosum metoda tvorby haploidů



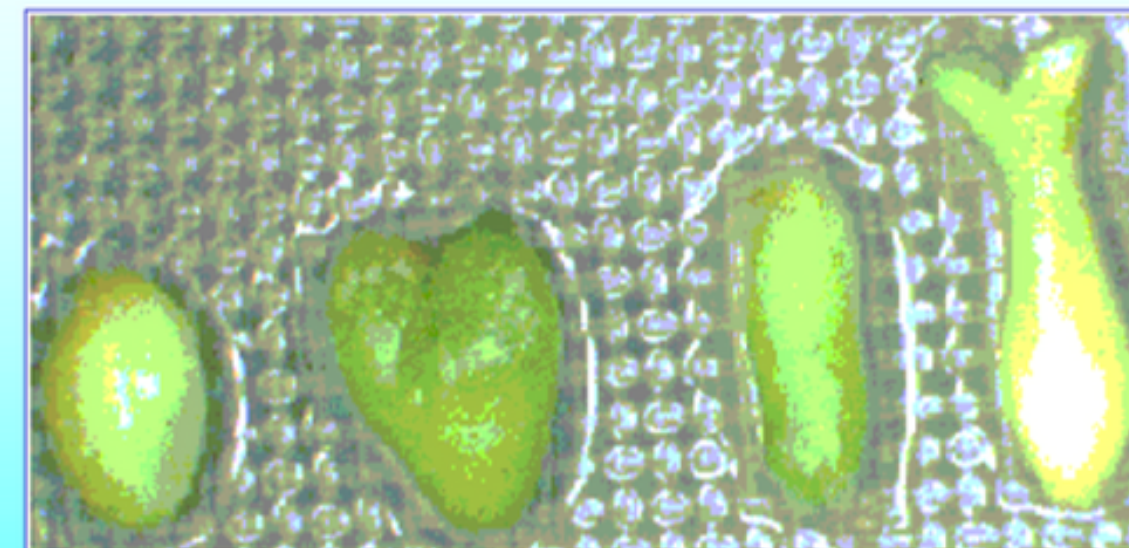
- **dříve** to byla mnohem účinnější metoda pro tvorbu haploidních rostlinek než mikrosporové kultury (nevýhoda = použití jen u ječmene)
- **nyní**, při použití zlepšeného složení média (sacharosa nahrazena maltosou), je mikrosporová kultura mnohem účinnější (~2000 rostlin ze 100 prašníků)

Somatická embryogeneze

- vývoj bipolární struktury embryonálními stádii bez fúze gamet
- spontánní SE *in vivo* (somatická pletiva - kapradiny, orchideje, kalanchoe..., reprodukční pletiva - Citrus, Mango...)
- indukovaná SE *in vitro* (nepřímá - přes kalus, přímá - meristémy, zygotická embrya, klíčící rostlinky)



Vývojová stadia somatických embryí



globulární

srdcovité

torpédovité

kotyledonární

<http://www.plant.uoguelph.ca/research/embryo/IMG00003.6>

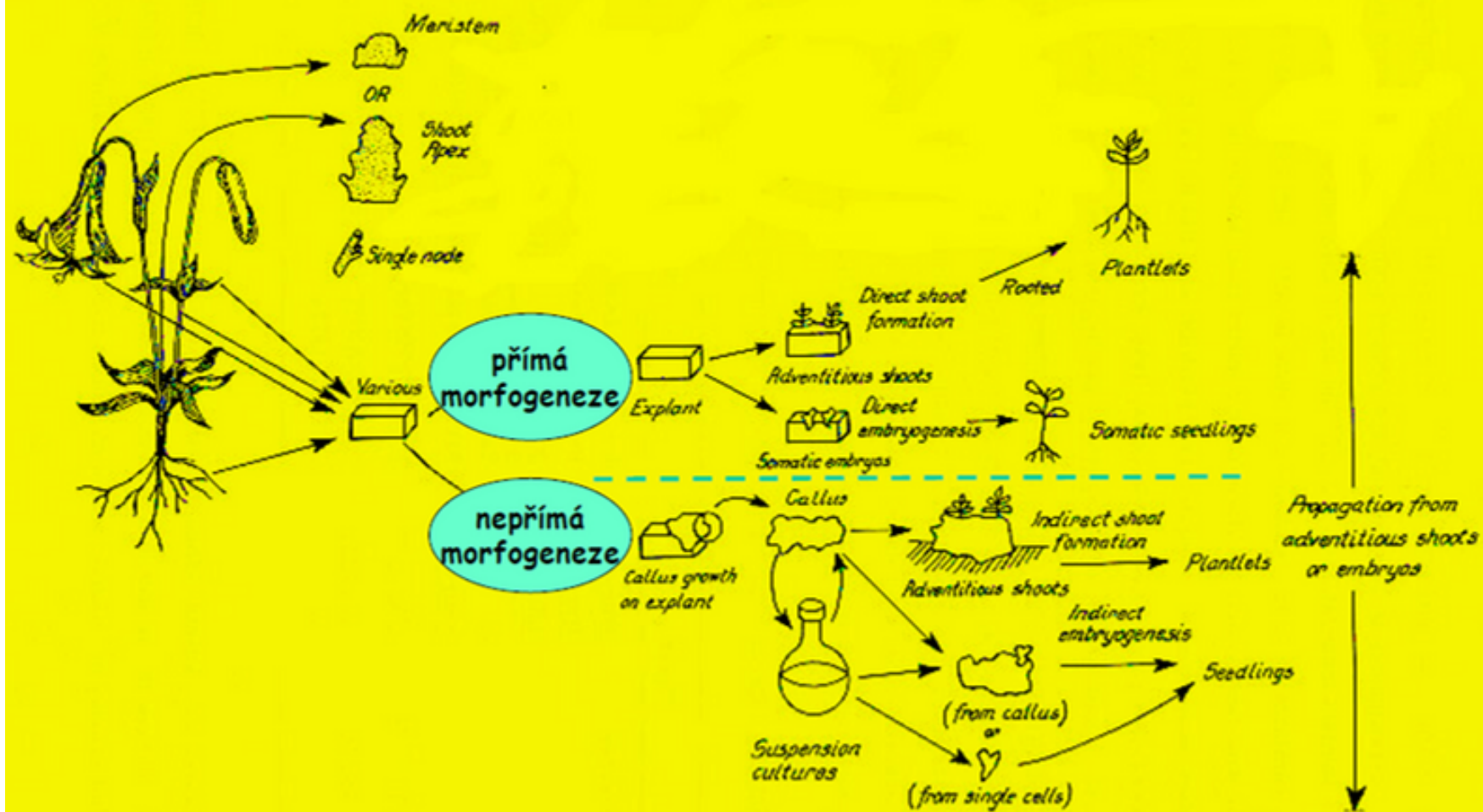
Využití

- tvorba umělých semen (enkapsulace)
- množení transgenních rostlin
- studium embryogeneze
- mikropropagace

Kalusové kultury

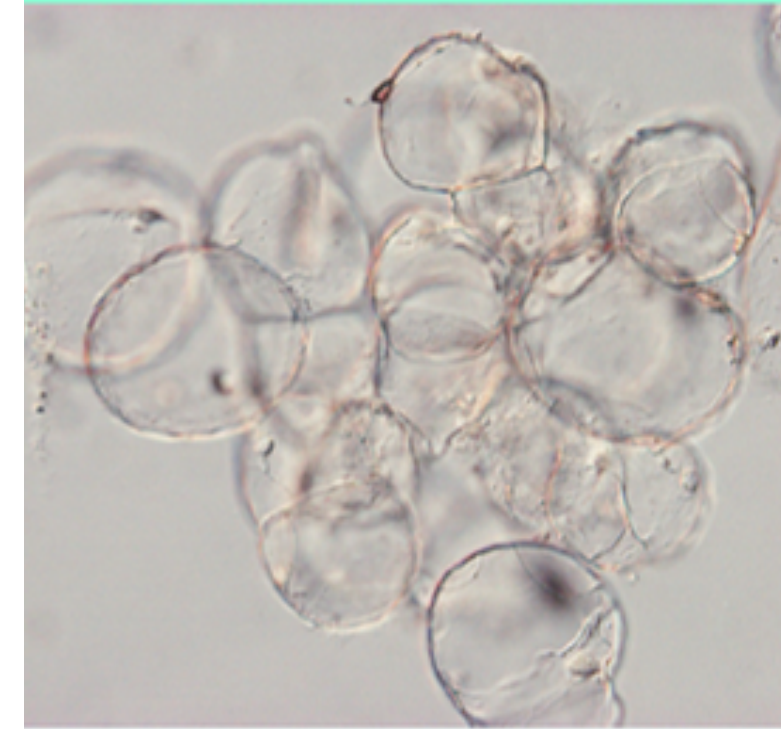
- amorfní hmota málo organizovaných, tenkostěnných, parenchymatických buněk

Přímá a nepřímá morfogeneze *in vitro*

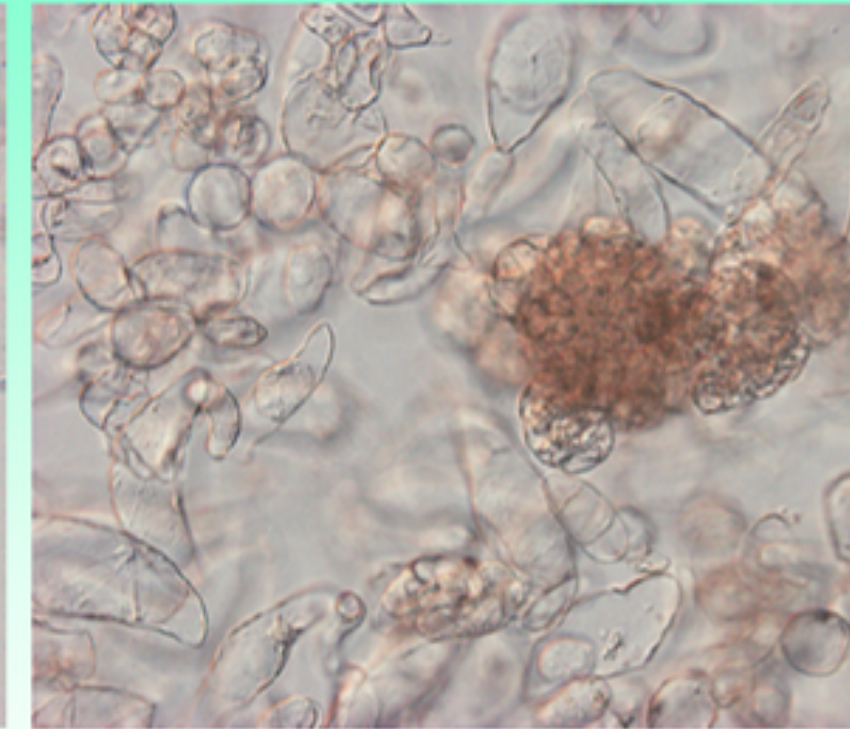


George a Sherrington (1984), upraveno

Fenotyp buněk kalusů



Nicotiana tabacum cv. Xantha



mrkev *Daucus carota* ssp. *carota*

Využití

- informace o regeneračních schopnostech rostlin
- izolace protoplastů
- tvorba sekundárních metabolitů (suspenzní kultury)
- genetická manipulace
- časově neomezený růst v *in vitro* podmínkách ("nesmrtelné kultury")

Shrnutí

- studium vývoje embryí
- aplikace v zemědělství a biotechnologiích - šlechtění, vylepšování vlastností plodin

