

Obsah

1. Explantátové kultury rostlin - základní principy	1
2. Zařízení laboratoře tkáňových kultur	4
2.1. Mytí skla	7
2.2. Sterilizace	8
2.2.1. Sterilizace kultivačních místností a očkovacích zařízení	8
2.2.2. Sterilizace nástrojů a skla	8
2.2.3. Autoklávování	9
2.2.4. Sterilizace živných roztoků	9
2.2.5. Sterilizace rostlinného materiálu	10
2.3. Sterilní práce v očkovacím boxu	11
3. Kultivační média pro explantátové kultury	13
3.1.1. Makroelementy	13
3.1.2. Mikroelementy	14
3.1.3. Zdroj uhlíku	14
3.1.4. Vitamíny	14
3.1.5. Aminokyseliny a další zdroje organického dusíku	15
3.1.6. Nedefinované organické složky médií	15
3.1.7. Látky používané pro zpevnění média	16
3.1.8. Růstové regulátory	17
3.2. Příprava živných médií	19
3.2.1. Zásobní roztoky	20
3.2.1.1. Makroelementy	20
3.2.1.2. Mikroelementy	20
3.2.1.3. Vitamíny	21
3.2.1.4. Růstové regulátory	21
3.2.1.5. Uchovávání zásobních roztoků	21
3.2.1.6. Sterilizace médií	22
3.2.1.7. Používaná kultivační média	23
4. Explantátové kultury a jejich využití	26
k mikropropagaci rostlin	26
4.1. Produkce rostlin z axilárních pupenů	28
4.1.1. Metoda kultivace vzrostných vrcholů	30
4.1.2. Metoda kultivace jednodálých segmentů	31
4.2. Množení přímou morfogenezi	31
4.2.1. Přímá tvorba adventivních pupenů	31
4.2.2. Přímá embryogeneze	32
4.3. Množení nepřímou organogenezi	32
4.4. Množení rostlin nepřímou somatickou embryogenezi	35
4.4.1. Umělá semena	39
5. Fáze mikropropagace	41
5.1. Stádium O - výběr matečné rostliny a její příprava pro odběr explantátu	41
5.2. Stádium I - Odvození aseptické kultury	42

5.3. Stádium II - proliferace explantátové kultury	44
5.3.1. Somatická embryogeneze	45
5.3.2. Stimulace axilárního větvení	45
5.3.3. Tvorba adventivních prýtků	46
5.4. Stádium III - zakořeňování in vitro	46
5.5. Stádium IV - zakořeňování in vivo a aklimatizace	48
6. Buněčné suspenzní kultury	50
6.1. Metody kultivace buněčných suspenzí	51
6.2. Růst a pasážování suspenzních kultur	52
6.3. Měření růstu buněčné suspenze	55
7. Kultury rostlinných protoplastů a somatická hybridizace	57
7.1. Izolace protoplastů z listů	58
7.1.1. Jednostupňová izolace	60
7.1.2. Dvoustupňová izolace	60
7.2. Izolace protoplastů z kalusové kultury	61
7.3. Izolace protoplastů z buněčné suspenze	61
7.4. Kultivace a regenerace protoplastů	62
7.5. Faktory ovlivňující kultivaci protoplastů	62
7.5.1. Hustota protoplastů a jejich vitalita	62
7.5.2. Metody kultivace protoplastů	63
7.5.3. Média používaná ke kultivaci protoplastů	63
7.6. Dělení a růst protoplastů	64
7.7. Somatická hybridizace	64
8. Prašňíkové kultury a kultury mikrospor	69
8.1. Prašňíkové kultury	69
8.2. Kultivace mikrospor	72
9. Ozdravování rostlin	74
10. Kryoprezervace rostlinného materiálu a uchovávání genofondu rostlin	76
11. Produkce sekundárních metabolitů	79
12. Genetická charakteristika tkáňových kultur	84
13. Aplikace tkáňových kultur rostlin v zemědělství	87
14. Využití explantátových kultur ve šlechtění rostlin	93

Protokoly laboratorních cvičení z explantátových kultur rostlin	97
1. Regenerace rostlin z nodálních segmentů	98
Mikropropagace hvozdíku (<i>Dianthus arenarius</i> ssp. <i>bohemicus</i>)	98
Mikropropagace aktinidie čínské (<i>Actinidia chinensis</i>)	100
2. Axilární větvení	102
Mikropropagace gerbery (<i>Gerbera</i> sp.)	102
3. Meristémové kultury	104
Meristémová kultura jahodníku	104
Mikropropagace banánovníku (<i>Musa cavendish</i>)	107
Meristémová kultura bramboru	109
4. Tvorba adventivních orgánů	111
Tvorba adventivních prýtlů v kultuře <i>Saintpaulia ionantha</i>	111
Mikropropagace lilí tvorbou adventivních cibulek	113
5. Nepřímá organogeneze	116
Organogeneze v explantátové kultuře tabáku	116
Organogeneze v kalusové kultuře anturie (<i>Anthurium</i> sp.)	118
6. Klíčení <i>in vitro</i>	120
Klíčení semen <i>Silene armeria</i> v podmínkách <i>in vitro</i>	120
7. Kalusové a suspenzní kultury	123
Odvození kalusové kultury mrkve	123
Suspenzní kultura mrkve	126
8. Somatická embryogeneze	129
Somatická embryogeneze v suspenzní kultuře mrkve	129
9. Prašníkové kultury	130
Androgeneze v prašníkové kultuře tabáku (<i>Nicotiana tabacum</i>)	130
10. Protoplastové kultury	132
Izolace a kultivace protoplastů z listového mezofylu tabáku	132
Literatura	141