

# Tkáňové kultury rostlin

## Mikropropagace



Czech University of Life Sciences Prague  
Faculty of Tropical  
AgriSciences

# *IN VITRO* KULTURY (EXPLANTÁTOVÉ KUTLURY, ROSTLINNÉ EXPLANTÁTY)



- Izolované rostliny, jejich orgány, pletiva či buňky pěstované *in vitro* ve sterilních podmínkách
- Na kultivačních médiích
- V řízených podmínkách (teplota, fotoperioda, intenzita osvětlení, atd.)

# KULTIVAČNÍ MÉDIA

## ■ Rozličná kultivační média:

- Nejběžnější tzv. MS médium – Murashige & Skoog (1962)

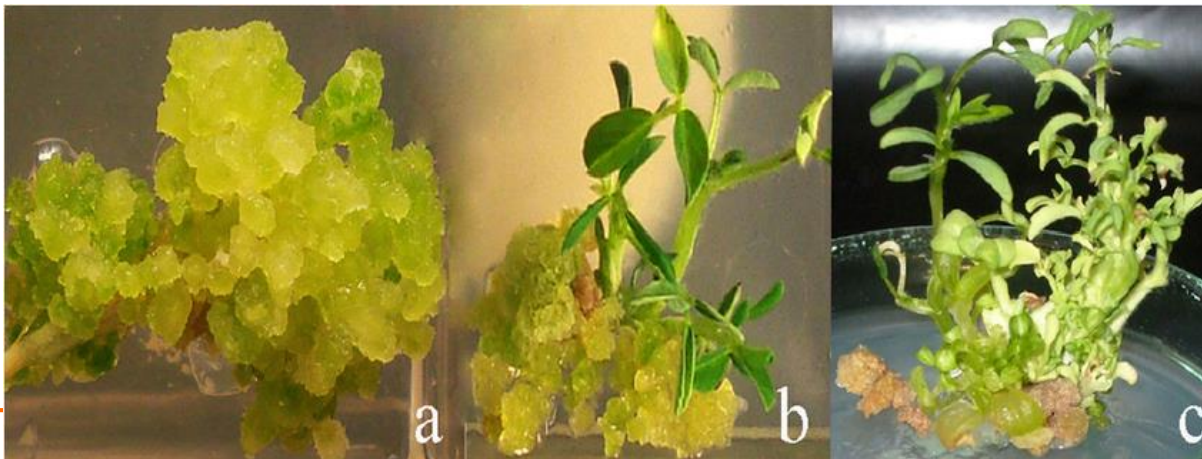
## ■ Složky kultivačních médií:

- Makroživiny (makroelementy): N, P, K, Ca, Mg
- Mikroživiny (mikroelementy): B, Co, Cu, Fe, Mn, I, Mo, Zn
- Organické složky:
  - Vitamíny
  - Sacharóza
  - Agar, atd.
- Růstové regulátory (rostlinné hormony, tzv. fytohormony): auxiny, cytokininy, gibberelová kyselina, atd.



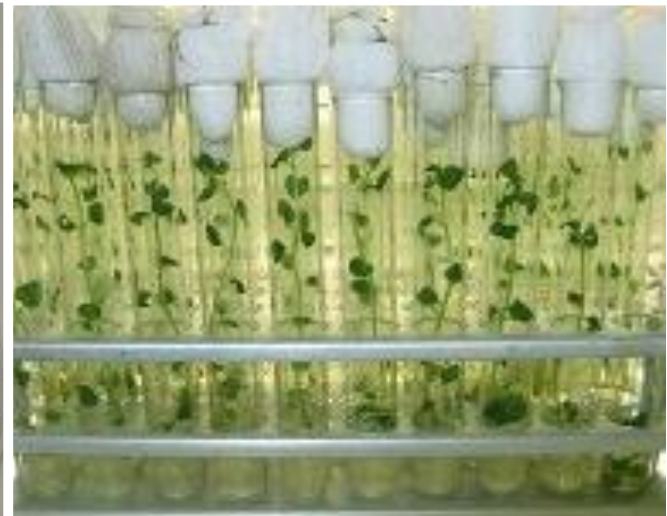
# MIKROPROPAGACE

- Vegetativní množení rostlin v aseptickém prostředí – *in vitro*
- Proces založený na „**TOTIPOTENCI**“
  - Schopnost buňky vytvořit jakýkoli typ buňky (každá totipotentní buňka obsahuje kompletní genetickou informaci pro celý organismus)



# MIKROPROPAGACE

- Rychlý a spolehlivý systém pro namnožení geneticky uniformních rostlin (klonů)
- Možnost nastavení pěstebních podmínek
- Produkce rostlin po celý rok
- X náročná metoda (odborný personál, optimalizace procesu)
- X drahá metoda – vybavení laboratoře, chemikálie, energie..



# MIKROPROPAGACE

---

## **Fáze mikropropagace:**

- a) Fáze 0 – výběr rostlinného materiálu
  - b) Fáze 1 – zavedení *in vitro* kultury
  - c) Fáze 2 – namnožení rostlinného materiálu
  - d) Fáze 3 – příprava rostlin na převod do skleníku (*ex vitro*)
  - e) Fáze 4 – *ex vitro* převod
-

# MIKROPROPAGACE

---

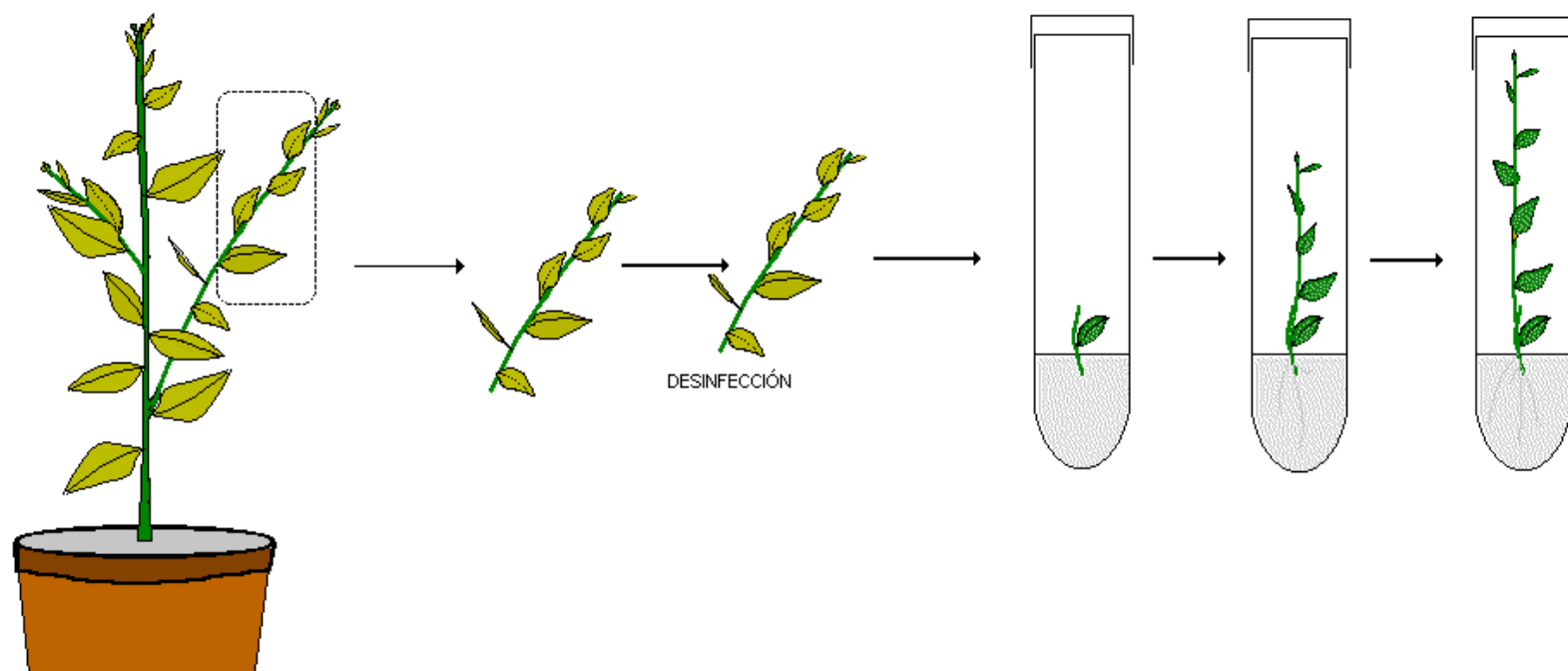
## Fáze 0 – Výběr rostlinného materiálu

- Charakter rostlinného materiálu ovlivňuje růst a reakci explantátu na kultivačním médiu (rostlinný druh, odrůda, genotyp, část rostliny, fenologická fáze..)
-

# MIKROPROPAGACE

## Fáze I – Zavedení *in vitro* kultury

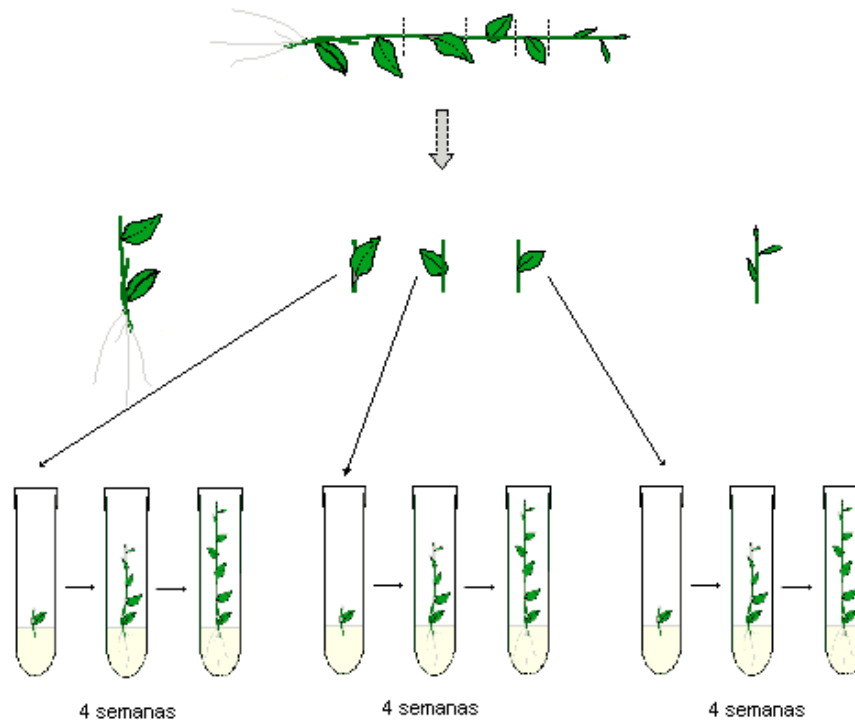
- Povrch rostlin je kontaminován mikroorganismy (plísně, bakterie)  
 **povrchová sterilizace**
- Předpokladem pro aseptickou kulturu rostlin
- Povrchová sterilizace rostlinného materiálu
  - Tekoucí voda (30-120 min.)
  - Etanol (70%~1 min., 96% ~10 s)
  - 1-2% NaClO – chlornan sodný (prům. 20 min.)
  - 3 x promytí sterilní destilovanou vodou
- X kontaminace přetrvává
- X explantáty uhynou



# MIKROPROPAGACE

## Fáze II – Namnožení rostlinného materiálu

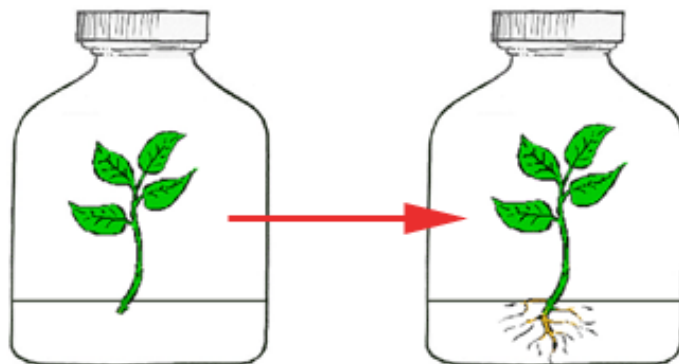
- Rostlina je rozdělena na části s jedním či více meristémy (pupeny)



# MIKROPROPAGACE

## Fáze III – příprava rostlin na převod do skleníku (*ex vitro*)

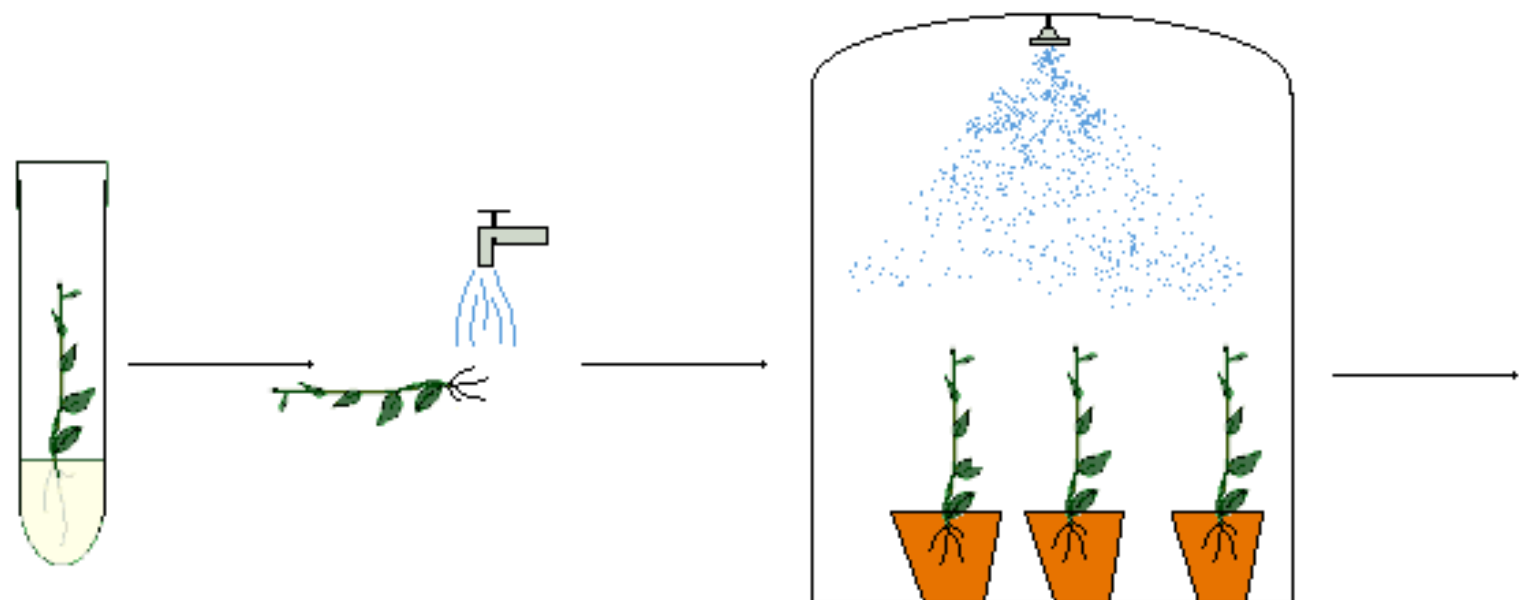
- Navození zakořenění (pokud rostliny nemají kořeny)
  - Použití rostlinných růstových regulátorů (rostlinných hormonů)
    - auxinů
  - V některých případech rostliny vytváří kořeny spontánně
- Nižší koncentrace sacharózy a vyšší intenzita osvětlení vedou k posílení fotosyntetického aparátu rostliny



# MIKROPROPAGACE

## Fáze IV – *Ex vitro* převod

- Převod rostlin z *in vitro* podmínek do půdy
  - Zakořeněné rostliny jsou vyjmuty z kultivační nádoby
  - Kořeny jsou promyty pod vodou (odstranění kultivačního média)
  - Rostlinky vysazeny do květináčů se substrátem (zemina : perlit = 1:1)
  - Zakryty průhlednou fólií s otvory (vysoká vzdušná vlhkost)
  - Postupné odkrývání fólie – až úplné odstranění – pozvolná adaptace rostlin na venkovní podmínky
  - Rostliny jsou vystaveny vlivu mikroorganismů



# MIKROPROPAGACE

---

## Využití mikropropagace:

- množení ovocných a zeleninových druhů
  - množení okrasných rostlin
  - množení ohrožených rostlinných druhů
  - množení nových odrůd (po šlechtitelském procesu)
-

# References

- Allard R. W., 1960. Principles of plant breeding, John Wiley, London.
- Bechyně M., Dotlačil L., Vyvadilová M., 2006. Principles of plant breeding and seed production, Scriptum, CULS, Prague.
- Engelmann F. 1991. *In vitro* conservation of tropical plant germplasm-a review. Euphytica 57: 227-243
- Jha T.B., Ghosh B. 2005. Plant Tissue Culture (Basic and Applied). Universities Press, India. 206 pp. ISBN 81-7371-488-6.
- George E.F., Hall M.A., De Klerk G.J. 2008. Plant propagation by tissue culture. Springer. 3rd Edition. pp 1-29; 335-355 Hayward M.D., Bosemark N.O., Romagosa I., eds., 1993. Plant breeding-Principles and prospects, Chapman & Hall.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15:473–497