

Studijní předmět (volitelný)

BOT/TEKSB: Techniky explantátových kultur (TEKSB)

1/2 hod/týden (dle možností blokováno)

Kat. botaniky: garant RNDr. Božena Navrátilová, PhD.

Formy výuky studijního předmětu: přednášky/praktická cvičení

Ukončení studijního předmětu: kolokvium

Počet kreditů: 4

Anotace předmětu:

Předmět navazuje a rozšiřuje přednášky z obecné botaniky a fyziologie rostlin. Podává přehled historie, základní principy explantátových kultur rostlin (EKR) a zásady práce. Pojednává o totipotenci rostlinné buňky, regenerační schopnosti rostlin, somatické variabilitě a morfogenezi (organogeneze, gametická a somatická embryogeneze). Součástí předmětu jsou základní metody EKR (meristémové, kalusové, prašnikové a protoplastové kultury, fúze protoplastů, embryokultury, somatická embryogeneze), využití EKR v praxi (šlechtění rostlin, mikropropagace, mutageneze, transgenóze, sekundární metabolity, kryoprezervace, genové banky *in vitro*, fytopatologie *in vitro*, selekce *in vitro* k abiotickým stresům, toxikologie *in vitro*).

Předmět je členěn na přednášky (blokovány) a praktická cvičení (blokována, max. 6 studentů ve skupině), v průběhu cvičení bude probíhat fotodokumentace experimentů.

Sylabus přednášek (blokováno 1 x za 2 týdny)

1. Explantátové kultury rostlin (EKR) - explantát, totipotence rostlinné buňky, historie EKR
2. Metody EKR - kultivační podmínky, práce s EKR, kultivační média, fytohormony a látky s růstově regulačním působením (rozdělení, účinnost)
3. Regenerace rostlin *in vivo* a *in vitro* (přímá, nepřímá), symptomy *in vitro*
4. Meristémové kultury - využití v praxi (ozdravování, mikropropagace)
5. Embryokultury *in vivo* a *in vitro*, využití embryokultur
6. Kalus - kalusové kultury; somaklonální variabilita, využití
7. Suspenzní kultury, somatická embryogeneze, umělá semena
8. Sekundární metabolity - indukovaná produkce metabolitů *in vitro*
9. Gametická embryogeneze - androgenese, ontogeneze pylu *in vivo* a *in vitro*, gynogeneze, využití haploidů v praxi
10. Protoplastové kultury a fúze protoplastů (typy a využití), cybridizace
11. Transgenní rostliny, historie a současnost (perspektivy)
12. Fytopatologie a toxikologie *in vitro*, selekce k abiotickým stresům.
13. Uchovávání genofondu *in vitro*, genobanky

Literatura

- Callaway D. J., Callaway M. B.: *Breeding Ornamental Plants*. Timber press, Oregon, 2000
Hall R. D.: *Plant cell culture protocols*. Totowa, New Jersey, Humana Press 1999
Ovesná J., Kučera L.: *Otázky biologické bezpečnosti GMO a mezinárodní závazky ČR*. Sborník, VÚRV, Praha, 2004
Procházka S. a kolektiv: *Fyziologie rostlin*. Praha, Academia, 1998
Smith R. H.: *Plant Tissue Culture. Techniques and Experiments*. Academic Press, 2000
Trigiano R. N., Gray D. J.: *Plant development and biotechnology*. CRC Press, 2005

Praktická cvičení (blokovaná, vlastní fotodokumentace v průběhu všech cvičení)

1. Úvodní

- 1.1. Teoretická část: bezpečnost práce v laboratoři, prohlídka laboratoří, příprava kultivačních médií a roztoků, sterilizace nástrojů a skla, příprava rostlinného materiálu pro aseptickou práci
- 1.2. Praktická část: příprava kultivačních médií (MS, OK, 1C, 1O), sterilizace nástrojů a skla potřebného pro cvičení
- 1.3. Převod *in vitro* rostlin do nesterilních podmínek (perlit, jiffy)

2. Mikropropagace rostlin (vyhodnocení ve cvičení č. 7)

- 2.1. Vliv růstových regulátorů v médiu na mikropropagaci rostlin
- 2.2. Mikropropagace *Saintpaulia* sp. z listů
- 2.3. Příprava média pro prašňkové kultury, rozvaření a rozlévání média do Petriho misek pro embryokultury

3. Meristémové kultury a embryokultury (vyhodnocení ve cvičení č. 7)

- 3.1. Izolace a kultivace nezralých embryí u *Capsicum annuum*.
- 3.2. Izolace a kultivace zralých embryí u *Cucumis sativus*.
- 3.3. Meristémové kultury *Brassica oleracea* var. *botrytis*.
- 3.4. Rozvaření a rozlévání média do Petriho misek pro prašňkové kultury.

4. Prašňkové kultury (vyhodnocení ve cvičení č. 7)

- 4.1. Založení prašňkové kultury z pupat (*Brassica oleracea*, *Nicotina* sp.)
- 4.2. Založení prašňkové kultury z jehněd (*Salix* sp.)
- 4.3. Klíčení semen v podmínkách *in vitro*
- 4.4. Příprava a sterilizace roztoků pro opylování *in vitro* a protoplastové kultury

5. *In vitro* opylování (vyhodnocení ve cvičení č. 7)

- 5.1. Izolace mikrospor (poupata *Cucumis* sp), životnost a vývojové stadium mikrospor
- 5.2. Izolace nezralých vajíček (poupata *Cucumis* sp.)
- 5.3. Opylování *in vitro*

6. Izolace a chemické fúze protoplastů (hodnocení kultivace ve cvičení č. 7)

- 6.1. Izolace protoplastů (*Brassica* sp., *Cucumis* sp.), stanovení životnosti a hustoty
- 6.2. Ovlivnění mezofylových protoplastů UV-C zářením
- 6.3. Chemická fúze protoplastů

7. Závěrečné

- 7.1. Hodnocení všech založených experimentů a dokumentace
- 7.2. Lokalizace buněčné stěny u protoplastů ovlivněných a neovlivněných UV-C zářením (barvení Calcofluor white, fluorescence)

8. Kolokvium: Vyhodnocení cvičení, protokoly, rozprava.