

## Krása TC

– mé zkušenosti s technikami mikropropagace v obrazech.

**Kultivace stonkových segmentů. Meristémové kultury.**  
**Kultivace vzrostných vrcholů. Kultivace rostlin z axilárních pupenů.**

### Hegemonie vrcholu.

Vrcholek rostliny je jejím pánem. Svou nadvládou / apikální dominancí/ reguluje růst všech ostatních částí. Poslem instrukcí jsou především hormony, které řídí vztahy mezi jednotlivými částmi rostliny a spolu s ostatními /enzymy, vitamíny a dalšími, o kterých ještě ani nevíme/ tvoří harmonický komplex, jehož části jsou mezi sebou navzájem obdivuhodně propojeny a tvoří jeden funkční celek. Zásahem skalpelu do těchto vztahů se pouštíme na velice tenký led. /Je až obdivuhodné co u rostlin znamená touha žít./

Ve vegetačním vrcholku rostliny a v nejmladších listcích se ve větší míře tvoří hormon auxin. Ten putuje směrem dolů rostlinou do kořenů, které stimuluje k růstu a naopak brání v růstu úžlabním pupenům. Apikální dominance je oslabována hormonem cytokininem . Bohatší větvení rostliny je tedy možné docílit dvěma způsoby. Buď zvýšením hladiny cytokininů, nebo snížením hladiny auxinů.



*Senecio*



*Senecio v kultuře*

S principy potlačení apikální dominance se setkáme v následujících technikách mikropropagace. Jsou to metody, kterými se v zahradnické praxi množí téměř 99 % všech okrasných rostlin.

### Kultivace stonkových segmentů.

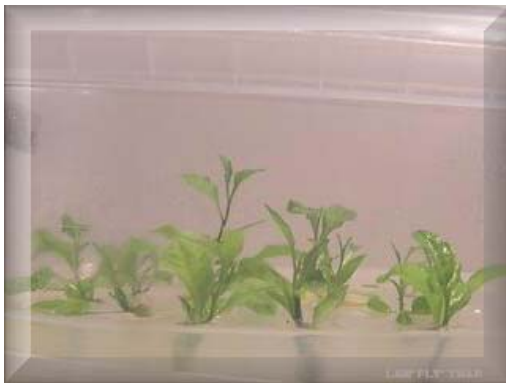
Kultivace stonkových segmentů patří k velmi jednoduché a rozšířené metodě rozmnožování rostlin v podmínkách in vitro. Materiál získáme nejnadhěji naklíčením semen v sterilní kultuře, nebo částí odebranou z matečné rostliny, obsahující několik listových segmentů, kterou vysterilizujeme. Tato se rozdělí tak, aby výsledný obsahoval jeden úžlabní axilární pupen. Nově vzniklé prýty se stejným způsobem rozřezávají a dále kultivují. Listy je možné v bazální části odříznout. Tato metoda je sice pomalejší, ale je z hlediska možnosti vzniku mutací velmi bezpečná.



*Naklíčené semenáčky  
Solanum thurium*



*Rozdělení stonku na části s jedním úžlabním  
pupenem, který prorůstá v nový prýt*



*takto se dále postupuje až do požadovaného množství*



*Jak začnou zvedat víčka rozřežeme a přemístíme do dalších nádob.*



*Nertera depressa*



*Start kultury*



*první pasážování*



*Postupné větvení prýtlů. Vzhledem k čipernosti této milé květinčky je možné oddělovat samostatné segmenty v průběhu 14 dnů.*

Této rostlině je do vínku dáno její extrémně bohaté větvení.

Je-li rostlině geneticky dáno, že nebude tvořit třeba adventivní pupeny, tak žádným hormonem ji k tomu nedonutíme. To je jeden moment, druhý je ten, tam kde to možné je, jej i v neindukčních podmínkách vynutit. Jednoduše řečeno hormon v určité koncentraci si musí najít cílovou buňku, nebo skupinu buněk, která na jeho přání bude reagovat./než k této reakci dojde proběhne na buněčné úrovni ještě celá řada dalších procesů z nichž jsou některé již objasněny/. Jakýkoli růstový proces je vždy ovlivňován spoluúčastí více hormonů v různé koncentraci a neexistuje hormon, který by řídil pouze jeden proces. V rámci celistvé rostliny se jedná o jakousi internetovou síť, na které vládne souhrnný hormonální systém.

## **Meristémové kultury. Kultivace vzrostných vrcholů.**

Velký význam při ozdravování rostlin od viróz, bakteriálních a houbových nákaz hrají kultury odvozené z čistého meristemického vrcholu, tedy bez listových základů. Velikost 0,2-1 mm. Tato oblast růstových buněk nemá vazbu na cévní svazky, které představují hlavní cesty šíření patogenů. Kultura se odvozuje z apikálních nebo axilárních meristémů a umožňuje i namnožení rostlinných druhů, které lze přirozeně rozmnožovat jen velmi obtížně. Před odebráním meristému je možné ošetřit matečnou rostlinu termoterapií, tedy působením vyšších teplot až do 40°C, které mohou napomoci eliminovat virózy.

Kultivace vzrostných vrcholů spočívá v izolaci vrcholové části rostliny ve velikosti do 3 mm. Nejedná se o izolaci meristému, explantátu stále zůstává několik listových základů. Pomocí hormonů přítomných v médiu /cytokininů/ se ruší vliv apikální dominance a dojde k prorůstání postraních výhonků. Ty se dále dělí a stejný postup se dále opakuje do požadovaného množství. Při vyšších koncentracích hormonů může dojít k tvorbě adventivních prýtlů, kde by hrozila možnost mutací a je to signál k revizi média.



*Nephentes – kultivace vzrostného vrcholu*

## **Kultivace rostlin z axilárních pupenů.**

Dendrobium – z úžlabí lístku je izolován axilární pupen, po sterilizaci odstraněny poškozené, /spálené/ části lístků a umístěn na živné médium. Postupně dochází k růstu prýtlů.



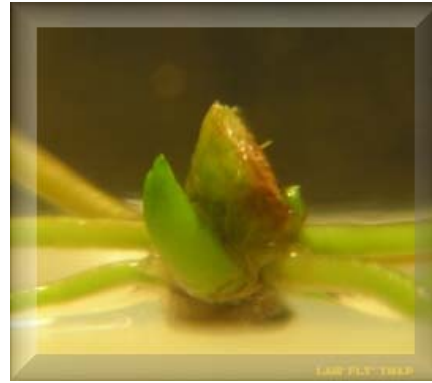
*rostoucí izolovaný  
axilární pupen*



*růst prýtlů pokračuje*



*růst po dalších 21 dnech kultivace*



*vrchol odříznut a přesazen  
dva nové pupeny prorůstají v prýty*

### **Pod čarou.**

In vitro kultura v různých stádiích uvolňuje v důsledku metabolismu do média látky, které mohou být časem pro rostlinu jedovaté. Toto se dá ošetřit dvěma způsoby. Přidáním složek do média, které tyto vlivy potlačí /antioxidanty – 8 hydroxychinolin, aktivní uhlí atd./, ale ty ovlivňují i koncentraci a tím účinnost média. Druhý způsob, pokud se nejedná o veliká množství nádob, je časté pasážování na čerstvé médium. Je to pracnější, choulostivější /každé otevření nádoby nese určité riziko/, a v domácích podmínkách méně početných kultur neúčinnější /v řadě případů se takto postupuje i v průmyslové praxi/. Frekvence může být podle potřeb od 3-4 dnů po týdny. Když je problém s fenoly, pasážuje se třeba každé 2-3 dny.



*Hnědnutí média způsobené metabolismem explantátu*

Stejným problémem může být měnící se skladba ovzduší nad médiem. V uzavřených nádobách je vysoká vzdušná vlhkost a metabolismus rostlinek může vést v určitých fázích k produkci etylénu a jiných plynných látek tak, že se jejich koncentrace nepřiměřeně zvyšuje./ ve fázi iniciace adventivních kořenů může etylén působit inhibičně, ale ve fázi exprese stimulačně. Hladina vysoké vzdušné vlhkosti v nádobách se projevuje u některých rostlin vitifikací /sklovitost/.



*V proříznutém víčku protažený molitan. Pro lepší stohovatelnost je vhodnější otvor proříznout v boku nádoby.*

Některé originální kontejnerky určené pro TC kultury mají tzv. mikroventilaci. Řešení u koupených potravinářských plastů se dá provést proříznutím otvoru ve víčku a protažením kousku molitanu. Potom při rozdílech teplot / noc a den/ dochází k pomalé výměně vzduchu v kultivační nádobě. Po sterilizaci média v nádobě a jejím chladnutí je pohyb vzduchu mnohem intenzivnější a hrozí nebezpečí vtažení patogenů do prostoru baňky. Zde je na místě ponechat nádoby v autoklávu nebo papinově hrnci až do jeho zchladnutí. U tenkých PP plastů může dojít při prudším ochlazení k jejich deformaci.



*Po obvodu víčka jsou patrné svislé ventilační mikrodrážky.*

Pokusy s dotací etylénu nebo CO<sub>2</sub> do kultivačních nádob můžeme provádět pomocí překlopeného malého akvária s přítomným plynem a vložení ohřáté nádoby s rostlinou. V domácích podmínkách budeme s jablky těžko měřit koncentraci dodaného hormonu, ale můžeme zjistit jestli ano nebo ne. Vše je nutné laboratorně ověřovat a v tom je krása TC.



*Applepokus – jablokových adventivních kořínků vyrůstajících na stonku plus opad listů může naznačovat přítomnost etylénu.*

V závěru seznámení se základními technikami mikropropagace, bych rád mimo téma tohoto článku uvedl v obrazech některé zajímavosti, se kterými se v in vitro kulturách můžeme setkat.

Při ovlivnění hormonu /gibereliny/, které se používají také při podpoře klíčení semen, může dojít i k nakvetení rostliny ve věku předpubertálním, jako v případě této tučnice.



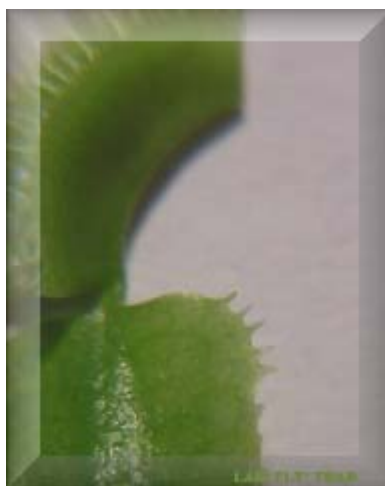
*Kvetoucí tučnice ve stáří 15 týdnů po umístění semínka na médium.*



*Drosery nezůstanou dlouho pozadu.*



*Nemohou-li kořinky prorůstat do hloubky  
vzdvihnou během týdne růžici z média do výšky 5 centimetrů.*



*Drobná anomálie tvaru okraje listu mucholapky.*

