

Obsah

Predslov	7
Úvod do štúdia predmetu „biotechnológie v rastlinnej produkcii“	9
1 Pletivové kultúry rastlín	13
1.1 História pletivových kultúr	13
1.2 Rozdelenie pletivových kultúr	14
1.3 Kultivačné podmienky	15
1.4 Rastové regulátory a ich pôsobenie	17
1.4.1 Stimulátory rastu a vývinu	18
1.4.2 Inhibítory rastu a vývinu	19
1.5 Typy pletivových kultúr	20
1.5.1 Kalusová kultúra	20
1.5.2 Bunková suspenzná kultúra	23
1.5.3 Protoplastová kultúra a fúzia protoplastov (somatická hybridizácia)	24
1.5.4 Kultúra izolovaných embryí (embryokultúra)	26
1.5.5 Kultúry vegetatívnych orgánov	26
1.5.5.1 Meristémová kultúra	26
1.5.5.2 Nodálna kultúra	27
1.5.5.3 Kultúra izolovaných koreňov	28
1.5.6 Kultúry generatívnych orgánov	28
1.5.6.1 Kultúra izolovaných mikrospór	28
1.5.6.2 Peľnicová kultúra	30
1.6 Morfogénéza rastlín	30
1.6.1 Embryogenéza	32
1.6.1.1 Zygotová embryogenéza	32
1.6.1.2 Somatická embryogenéza	33
1.6.2 Indukcia haploidných rastlín	36
1.6.2.1 Indukovaná androgenéza	36
1.6.2.2 Indukovaná gynogenéza	37
1.6.2.3 Indukcia dihaploidov z haploidných rastlín	38
1.7 Problémy spojené s kultiváciou v podmienkach <i>in vitro</i>	39
1.7.1 Variabilita v kultúrach <i>in vitro</i>	40
1.7.1.1 Genetická variabilita	40
1.7.1.2 Somaklonálna variabilita	41
1.8 Kryokonzervácia	43
2 Genetická transformácia rastlín	45
2.1 Priame metódy prenosu génov	46
2.1.1 Transformácia protoplastov	46

2.1.2	Biolistická transformácia.....	46
2.2	Nepriame metódy prenosu génov.....	48
2.2.1	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	49
2.2.2	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> a genetické inžinierstvo	51
2.2.3	Transformácia rastlín pomocou <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	55
3	Expresia transgénov v rastlinách a metódy ich detekcie.....	59
3.1	Základná charakteristika expresie génov a ich regulácie v eukaryotických bunkách... 59	59
3.2	Faktory ovplyvňujúce expresiu génov v rastlinách.....	60
3.3	Príprava transgénnych expresných jednotiek v klonovacích, prípadne kazetových vektoroch	64
3.4	Zavedenie transgénnych expresných jednotiek do rastlín pomocou transformačných vektorov	66
3.5	Analýza transgénnych rastlín	67
3.5.1	Selekčný test	67
3.5.2	PCR analýza	67
3.5.3	Southern hybridizácia.....	68
3.5.4	RT-PCR (PCR po reverznej transkripcii).....	70
3.5.5	Northern hybridizácia	70
3.5.6	<i>In situ</i> hybridizácia	71
3.5.7	Western blot analýza	71
3.5.8	Biochemické stanovenie aktivity transgénneho proteínu/enzýmu	72
3.6	Možné problémy spojené s prenosom transgénu do rastlín.....	73
4	Využitie transformácie rastlín na zlepšenie ich vlastností	78
4.1	Geneticky modifikované rastliny rezistentné voči herbicídum	78
4.1.1	Rezistencia voči glyfosátu.....	78
4.1.2	Rezistencia voči iným herbicídum	80
4.1.3	Plodiny tolerantné voči herbicídum a ich uplatnenie v životnom prostredí.....	81
4.2	Geneticky modifikované rastliny rezistentné voči škodlivému hmyzu	82
4.2.1	Insekticídne proteíny v rastlinách	83
4.3	Geneticky modifikované rastliny rezistentné voči vírusom	84
4.4	Zlepšenie nutričnej kvality plodín	85
4.4.1	Zlatá ryža – Golden Rice	85
4.4.2	Repka olejná a sója so zvýšeným obsahom vitamínu E	86
4.4.3	Kávovník s bezkofeínovými bôbami.....	86
4.5	Zlepšenie kvalitatívnych vlastností plodín Rajčiak FlavrSavr s predĺženou skladovateľnosťou plodov.....	87
4.6	Ďalšie aplikácie transgenózy rastlín	88
5	Genomika, proteomika, metabolomika a bionformatika.....	89
5.1	Genomika.....	90
5.1.1	Metódy genomiky.....	94
5.1.1.1	Mapovanie genómu	94
5.1.1.2	Určenie poradia nukleotidov genómu	97
5.2	Proteomika.....	100
5.2.1	Metódy proteomiky.....	101

5.2.1.1	Dvojrozmerná elektroforéza bielkovín	101
5.2.1.2	Hmotnostná spektrometria.....	102
5.2.1.3	Proteínový čip	103
5.2.1.4	Počítačové analýzy <i>in silico</i>	103
5.3	Metabolomika.....	104
5.4	Bioinformatika	105
5.4.1	Biologické databázy.....	106
5.4.2	Nástroje bioinformatiky	108
6	Identifikácia genotypov rastlín pomocou genetických markerov	113
6.1	Molekulárne markery a ich využitie	115
6.2	Bielkoviny ako molekulárne markery	116
6.2.1	Charakteristika bielkovín zrna pšenice, jačmeňa, raže, ovsu a pohánky z hľadiska kvality z hľadiska kvality	117
6.2.2	Využitie HMW glutenínových podjednotiek pri identifikácii genotypov pšenice	120
6.2.3	Genetické markery jačmeňa	125
6.3	DNA ako molekulárny marker.....	128
6.4	Hybridizačné techniky vyhľadávania polymorfizmu DNA.....	131
6.4.1	RFLP technika.....	131
6.4.2	DNA fingerprinting.....	133
6.5	Amplifikačné techniky vyhľadávania polymorfizmu – PCR markery	134
6.5.1	Vizualizácia amplifikovaných DNA fragmentov.....	137
6.5.2	RAPD technika.....	138
6.5.3	AFLP technika	139
6.5.4	STMS technika.....	141
6.5.5	SCoT technika	142
6.5.6	IRAP technika	143
6.5.7	SNP technika	144
6.6	Mapovanie genómov rastlín pomocou molekulárnych markerov	144
6.7	MAS metóda – selekcia pomocou markera.....	146
6.7.1	NIL (nearly isogenic line) – blízke izogénne línie	148
6.7.2	BSA (bulk segregant analysis) – analýzy štiepiacich skupín.....	149
6.7.3	QTL (quantitative trait loci) – lokusy kvantitatívnych znakov	149
6.7.4	Využitie MAS metódy.....	149
7	Legislatíva	151
8	Terminologický slovník.....	157
9	Zoznam použitej literatúry.....	169
O autoroch.....	174

Predslov



Biotechnológie v súčasnom období patria medzi hlavné trendy výskumu 21. storočia. Sú v centre pozornosti významných vedeckovýskumných a vzdelávacích inštitúcií na celom svete. Klasické biotechnológie, pod ktorými treba chápať využitie živých organizmov na produkciu potravín či iných užitočných látok pre potreby človeka, sa v 70. rokoch minulého storočia objavením restriktčných endonukleáz, reverznej transkriptázy a skonštruovaním prvej rekombinantnej DNA, pretransformovali na molekulárnu úroveň a položili základ novej vednej disciplíny – molekulárnej biotechnológie. Moderné biotechnológie sa študujú ako na mikrobiálnej úrovni, tak aj na úrovni rastlín a živočíchov.

Biotechnológie v rastlinnej produkcii sa zameriavajú na využitie rastlín pre potreby človeka s aplikáciou poznatkov molekulárnej biológie, metód a techník génového inžinierstva.

Učebná pomôcka je určená predovšetkým pre študentov a doktorandov FBP, FAPZ, FZKI SPU v Nitre a študentov iných fakúlt, ktorí majú vo svojich študijných programoch predmet molekulárna biológia, molekulárna genetika, genetické inžinierstvo, biotechnológie, biochemické technológie, geneticky modifikované potraviny a ďalšie príbuzné predmety.

Autori