

## 5. ZÁVĚRY

- Vývoj somatických embryí probíhající na maturačním médiu lze na anatomické úrovni rozdělit do čtyř vývojových stádií lišících se různým stupněm vnitřní diferenciací: stádium raných somatických embryí, cylindrické stádium, stádium prekotyledonární a stádium kotyledonární.
- U embryí kultivovaných na maturačním médiu po dosažení kotyledonárního stádia dochází k rozpadu kořenové čepičky a vývojovým poruchám, spojeným s ukládáním polyfenolických látek a škrobu.
- Časová posloupnost jednotlivých vývojových stádií maturace somatických embryí je ovlivněna působením PEG 4000, při použití 3,75% PEG se celý proces maturace zrychlí až o dva týdny ve srovnání s maturací probíhající na médiu bez PEG. Zvýšená koncentrace PEG (7,5%) vede ke vzniku prasklin v hypokotylu somatických embryí.
- Obsah nestrukturních sacharidů v embryogenní kultuře rostoucí na maturačním médiu se s jejím vývojem zvyšuje, a to díky zvyšujícímu se obsahu sacharosy v embryích. Obsah hexos v embryích je nízký.
- PEG 4000 v koncentraci 3,75 % v maturačním médiu zvyšuje poměr sacharosy ku hexosám v somatických embryích, celkový obsah sacharidů v embryogenní kultuře mírně snižuje. Přidání 7,5 % PEG do maturačního média vede ke změnám v obsahu a dynamice ukládání nestrukturních sacharidů, embrya obsahují hexosy ve větší míře než embrya pěstovaná bez, či s 3,75% PEG.
- Celkový počet vyvinutých embryí se u většiny testovaných linií zvýší zařazením pre-maturační fáze (na médiu bez růstových regulátorů) mezi proliferaci a maturaci. Podobný efekt má kultivace embryogenních kultur na prámčích s polypropylenovou membránou, která zároveň zkracuje dobu nutnou k jejich vývoji.
- Byl vytvořen vzorový protokol pro práci s embryogenními kulturami smrku ztepilého od fáze indukce až po převod do *ex vitro* podmínek, včetně postupu kryoprezervace.

- Exprese genu pro transkripční faktor PaVP1 je detekovatelná jen v embryogenních liniích, bez ohledu na jejich schopnost tvořit zralá embrya. V neembryogenní kultuře není exprese *PaVP1* detekovatelná.
- Exprese *PaVP1* je u embryogenních linií indukována přenesením na maturační médium obsahující ABA. Vynechání ABA v průběhu maturace vede k rychlému vymizení exprese *PaVP1* a také k poškození vývoje embryí.
- U linie s nízkou embryogenní kapacitou je zvýšení exprese *PaVP1* po přenesení na maturační médium pouze přechodné. Následný pokles exprese *PaVP1* je spojen s rozpadem meristematických center.
- V liniích s vysokou embryogenní kapacitou se udržuje exprese *PaVP1* v průběhu maturace na vysoké hladině s maximem v kotyledonárním stádiu vývoje embryí.
- *PaVP1* sonda specificky hybridizuje se dvěma transkripty odlišné délky, jejichž vzájemný poměr se v průběhu vývoje embryogenních kultur mění. To indikuje možnost regulace syntézy PaVP1 proteinu alternativním sestřihem.