



# Planter i petriskåle

Kloning, halvering og fordobling af antallet af kromosomer, udskiftning af organeller og gensplejsning er eksempler på bioteknologiske metoder, der forudsætter, at man kan dyrke plantevæv på sterilt dyrkningsmedium i laboratoriet.

*Af Inger B. Holme, Aarhus Universitet og Inga C. Bach, Københavns Universitet*

Så langt tilbage som 1878 fremsatte den tyske botaniker Hermann Vöchting med sin hypotese om, at ethvert plantefragment, hvor småt dette end måtte være, har evnen til at genopbygge nøjagtig den plante, som fragmentet er taget fra, blot de ydre forhold er til det (Figur 1). I 1902 gik den østrigske botaniker Gottlieb Haberlandt et skridt videre med sin forudsigelse om, at man en dag ville blive i stand til at producere planteembryoer ved dyrkning af vegetative celler.

I begyndelsen af 1920'erne lykkedes andre forskere at få orkidestiklinger til at spire på et agar-medium i aseptisk miljø og at få afskårene rodspidser af ærter og majs til at gro på et animalsk baseret medium. En milepæl blev nået da det i 1934 lykkedes for Philip R. White i 1934 at opnå en vedblivende vækst af en kultur af rødder fra tomat på et veldefineret næringsmedium (Whites medium). I USA betragtes han af den grund som vævskulturens fader. Det vil nogle franskmænd dog komme med indvendinger imod, eftersom det samme år lykkede to franskmænd, Roger Gautheret og Pierre Nobécourt uafhængigt af hinanden at få gulerod til at danne kallus.

De næste større fremskridt blev gjort af franskmænd Georges Morel, da han i 1950 opdagede, at kokosmælk havde udmærkede egenskaber som dyrkningsmedium. I 1962 bidrog amerikanerne Toshio Murashige og Folke Skoog

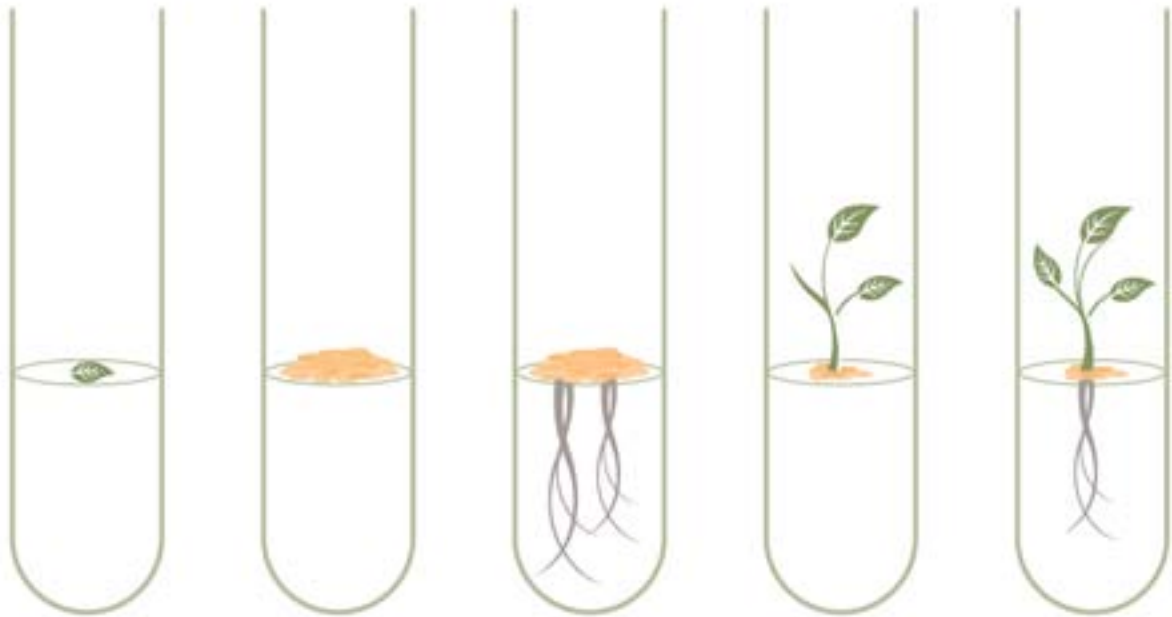
med opskriften på et standardiseret dyrkningsmedium, indeholdende makronæringsstoffer, mikronæringsstoffer og vitaminer mm. Dette såkaldte MS-medium benyttes i dag i laboratorier verden over (Tabel 1). Som regel suppleres med plantehormoner eller syntetiske analoger, for at få plantecellerne til at vokse på den ønskede måde (Figur 2).

I 1970'erne åbnede DNA-teknologien mulighed for at indsætte fremmed DNA i planters arvemasse. Det gav



**Figur 1.** Nilgud (*Kalanchoe daigremontiana*) danner små nye planter fra bladene. Muligvis var den tyske botaniker Hermann Vöchting inspireret af planter med denne evne, da han i 1878 fremsatte sin hypotese om, at ethvert plantefragment, har evnen til at genopbygge nøjagtig den plante, som fragmentet er taget fra.





**Figur 2.** Planter vækst styres i høj grad af hormoner. Der er fem klasser af hormoner i planter: auxiner, cytokininer, gibberelliner, abscisin syre og ethylen. Ved tilsætning af hormoner i præcise koncentrationer og kombinationer kan man inducere dannelse af kallus, rødder, skud eller embryoer, der udvikler sig til hele planter.

ekstra fokus på dyrkning af planteceller i vævskultur (*in vitro*). Efter mange års intensiv forskning er det lykkedes at overkomme mange svære udfordringer. Der findes nu protokoller til dyrkning af celler og væv fra en lang række plantearter *in vitro*, dvs. under sterile (aseptiske) forhold og på et nøje tilpassede dyrkningsmedier.

I dag dyrkes mange plantearter rutinemæssigt *in vitro* i petriskåle eller reagensglas, og formålene er mangeartede. *In vitro*-dyrkning af plantevæv bruges bl.a. til opformering og til rensning af vegetativt formerede planter for virusinfektioner.

Dyrkning af planteceller *in vitro* benyttes også, når der forædles nye afgrødesorter. Der dyrkes f.eks. støvknapper og pollen for at fremstille homozygotiske individer (dobbelthaploider) af kornarterne, og der fusioneres protoplaster (celler uden cellevæg) for at overføre organeller mellem fjernt beslægtede arter. Mutationer, som er opstået i somatiske celler (blade, stængler eller rødder) under dyrkning *in vitro*, kan udnyttes som supplerende genetisk variation indenfor arten, idet det er muligt at regenerere hele planter ud fra en enkelt somatisk celle.

Dyrkning af planteceller *in vitro* og regenerering af hele planter fra en enkelt celle er et uundværligt trin, når der indsættes fremmed DNA i en plantes genom ved hjælp af gensplejsning.

### Virusfrit plantemateriale vha. meristemkultur

For kartofler og andre vegetativt formerede afgrøder som f.eks. jordbær er det lovpligtigt at dyrke planterne i en periode

på kunstigt næringssubstrat. Kartoffler kan angribes af mange forskellige virus, hvoraf nogle er karantæneskadede. For at undgå spredning af virus sygdomme via inficerede læggekartofler, er det ikke tilladt at sælge læggekartofler, uden at moderplanterne er garanteret virusfri. Man kan fremavle sunde planter fra virusinficerede planter ved at etablere en kultur, hvor kun de vækstpunktet (meristemet) i spidsen af en kartoffelspire fra den inficerede plante dyrkes (Figur 3). De fleste virus spredes lokalt fra plantecelle til plantecelle via plasmodesmata og systemisk i planten via ledningsstrengene. I meristemet er disse transportveje endnu



**Figur 3.** For at forebygge spredning af virus sygdomme med inficerede læggekartofler, dyrkes de yderste skudspidser fra spirede kartofler *in vitro*. Foto: Donnamarijne.





**Tabel 1:** MS medium. Det ernæringsmæssige behov for næringssalte hos planteceller i vævskultur er stort set det samme som for celler i en intakt plante, men cellerne har som regel begrænset mulighed for at skaffe energi ved fotosyntese, så der suppleres med kulhydrater i dyrkningsmediet. Desuden tilsættes ofte plantehormoner.

Makroelementer	Koncentration i medium (mg/l)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
KNO <sub>3</sub>	1900
CaCl <sub>2</sub> x 2H <sub>2</sub> O	440
MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	370
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
<b>Mikroelementer</b>	
KI	0,83
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2
MnSO <sub>4</sub> x 4H <sub>2</sub> O	22,3
ZnSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	8,6
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0,25
CuSO <sub>4</sub> x 5H <sub>2</sub> O	0,025
CoCl <sub>2</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0,025
FeSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	27,8
Na <sub>2</sub> EDTA x 2H <sub>2</sub> O	37,3
<b>Organiske stoffer</b>	
Myoinositol	100
Nikotinsyre	0,5
Pyridoxin-HCL	0,5
Thiamin-HCL	0,5
Glycin	2
Sukrose	30000

ikke etableret, og de yderste celler i skudspidsen er derfor ofte virusfrie. Meristemkultur har i mere end 30 år været brugt til produktion af virusfrie kloner af kartoffel.

### Fra celle til kim - somatisk embryogenese

I en plantes normale livscyklus dannes et embryo (kim) efter befrugtning af en ægcelle med et pollenkor. Den befrugtede ægcelle (zygoten) gennemgår en serie celledelinger (mitoser), og der dannes datterceller, som er genetisk identiske. Efter nogle delinger begynder dattercellerne at differentiere, og der dannes et embryo med forstadier til kimrod, kimblade og skud.

Når en gruppe ens celler skal udvikle sig til et embryo, skal de 'aftale' indbyrdes, hvilke celler der skal danne forstadier til de forskellige organer. Aftalerne foregår via en kompliceret dialog mellem cellernes signalmolekyler

og receptorer og munder ud i, at cellerne får forskellig genaktivitet, selvom alle celler indeholder de samme gener.

I "færdigdifferentierede" celler, f.eks. en fotosynteseaktiv mesofylcelle i et blad eller en rodhårscelle, er der slukket for mange af de gener, som er aktive under udviklingen fra zygote til embryo.

Der findes udifferentierede celler i planters meristemer, som sidder i skudspidser, bladhjørner og rodspidser mv. Disse celler deler sig, og giver ophav til nye celler, når planten vokser. Dattercellerne udvikler sig normalt til specialiserede vævsspecifikke celler, men under visse betingelser kan de i stedet fungere som en slags stamceller ligesom zygoten og danne embryoer. Sådanne embryoer kaldes somatiske embryoer. Det kaldes somatisk embryogenese.

Nogle tokimbladede plantearter har meget let ved at danne somatiske embryoer. Det udnyttes til vegetativ formering (kloning) af nogle potteplanter. En almindelig potteplante som Saint Paulia kan f.eks. formeres ved blot at stikke bladstykker i fugtig jord. På snitfladen af bladet dannes somatiske embryoer, og de små embryoer spirer og danner genetisk ens småplanter.

Hos de fleste græsarter er det kun unge og aktivt delende celler, der effektivt kan induceres til somatisk embryodannelse. Ældre celler mister kapaciteten, og det begrænser udvalget af vævstyper, der kan anvendes til dyrkning *in vitro*. De vævstyper fra hvede og byg, som bedst kan danne somatiske embryoer, er modne og umodne embryoer, umodne pollenkor (mikrosporer) og befrugtede ægceller (zygoter).

### Kloning vha. somatisk embryogenese

Somatisk embryogenese kan anvendes til opformering af vegetativt formerede arter. Der er udviklet protokoller til produktion af somatiske embryoer fra en lang række prydeplanter som Begonia, Chysanthemum, Cyclamen, Rose og Saintpaulia. Der findes også protokoller for somatisk embryogenese for nogle træarter såsom nordmannsgran, rødgran, sandeltræ, citrus og mango.

Manuel produktion af somatiske embryoer er arbejdskrævende og dermed dyrt. Kommerciel kloning vha. embryogenese forudsætter derfor enten billig arbejdskraft eller storskala dyrkning i bioreaktorer. Bioreaktorer er store beholdere, hvor cellerne dyrkes i flydende vækstmedium under omrøring. De er ofte forsynet med avanceret udstyr som automatisk tilførsel og fraførsel af vækstmedium og automatisk regulering af pH. Det gør det muligt at producere et stort antal somatiske embryoer uden den store arbejdsindsats.

### Mutationer i vævskultur

Når man dyrker planteceller i vævskultur indgår der ofte en fase, hvor udifferentierede celler (kallus) deler sig, før der dannes somatiske embryoer eller skud. Under kallasfasen, som kan vare flere måneder, sker der ofte mutationer. Der



kan også være sket mutationer i plantevævet, før dyrkning i vævskultur. Man opdager sjældent sådanne mutationer, da enkelte afvigende celler i en plante er svære at identificere. Mutationer i somatiske celler videreføres kun til næste generation, hvis disse celler regenereres individuelt og bliver til hele planter, der kan sætte få afkom. Genetisk variation, som kommer til syne efter dyrkning af somatiske celler i vævskultur, kaldes somaklonal variation.

Langt de fleste mutationer er skadelige for planten og uønskede, og hvis formålet med at dyrke planterceller *in vitro* er at klonе værdifulde genotyper, gøres kallusfasen så kort som muligt.

I nogle tilfælde er man i interesseret i at udnytte denne genetiske variation, som kan opstå den dyrkning af planteceller *in vitro*, og flere afgrødesorter har egenskaber, som skyldes somaklonal variation. For at forøge frekvensen af mutationer og dermed den genetiske variation kan man inducere mutationer i kallusceller ved hjælp af kemisk eller fysisk behandling. Ethylmethansulfonat (EMS) inducerer punktmutationer i plantecellernes DNA, oftest i form af ændringer så nogle G:C basepar omdannes til A:T basepar. Fysiske mutationsmidler som gamma- eller røntgentbestråling kan også anvendes på vævskulturer.

For at finde nyttige mutanter er man nødt til at udsætte cellekulturen for et selektionspres f.eks. ved at tilsætte et ukrudtsmiddel til dyrkningsmediet. Dermed vil kun celler med en mutation, der giver tolerance overfor ukrudtsmidlet kunne vokse. På denne måde er der identificeret en somaklonal variant af majs med tolerance overfor ukrudtsmidlet imidazolinon.

Planter, som har været udsat for EMS-behandling eller bestråling, kan have mutationer i mange forskellige gener. Interessante mutationer vil derfor blive overført til en højtydende sort ved gentagne krydsninger og selektion af afkom med mutationen. Genomet i mutanten udskiftes således med DNA fra den højtydende sort, og kun området omkring den ønskede mutation vil være tilbage. Kun i Canada er der særlige godkendelsesprocedurer og restriktioner vedrørende dyrkning af sorter, som er udviklet ved hjælp af inducerede mutationer. I andre lande betragtes fysisk og kemisk inducerede mutationer på lige fod med naturligt opståede mutationer.

### Smutvej til homozygotiske individer

Før en ny afgrødesort kan godkendes til markedsføring, skal den været ensartet, så der ikke sker udspaltning, når sorten opformeres. For arter som byg og hvede indebærer det, at de er homozygotiske i alle genloci. Byg og hvede er normalt selvbefrugtende arter og skal have hjælp fra mennesker for at få to individer til at udveksle gener med hinanden (Figur 3). Efter en kontrolleret krydsning mellem to forældreplanter med forskellig genotype er afkomplanterne i F1-generationen heterozygotiske i alle de loci, hvor forældreplanterne er forskellige. I de følgende generasjoner bliver afkomplanterne gradvist



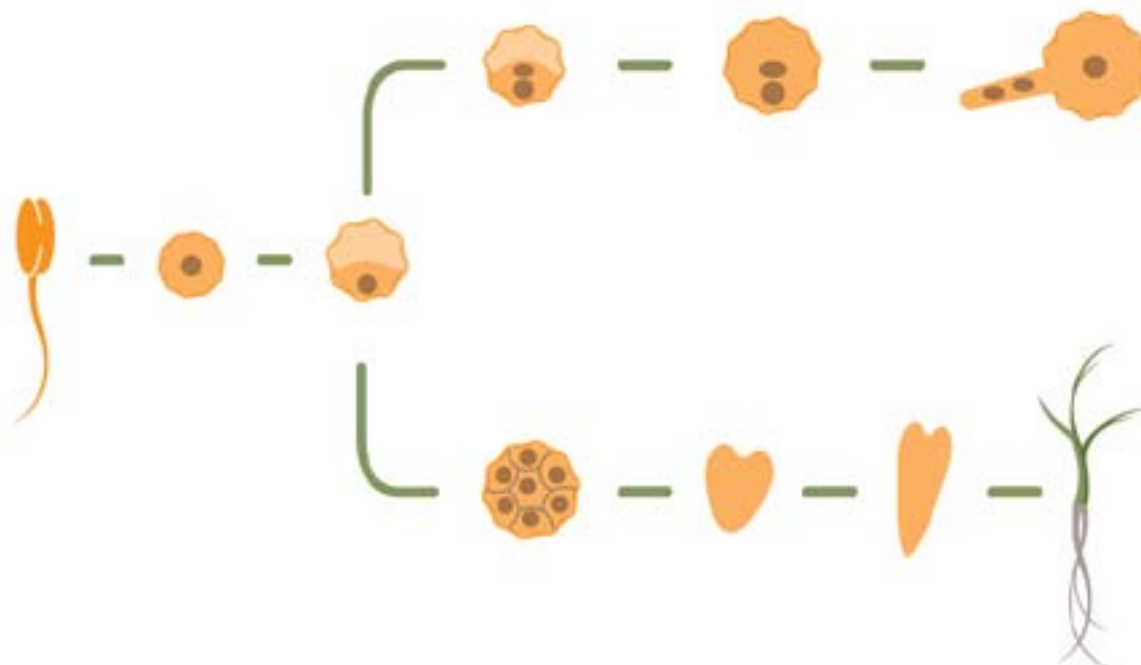
**Figur 3.** Byg er selvbestøvende, så når to bygplanter skal krydses, fjernes støvknapperne (emaskulering) fra alle blomster i et aks, før bestøvning har fundet sted. De tilbageværende hunblomster bestøves med pollen fra en anden bygplante 3-4 dage efter emaskulering. I de loci, hvor forældreplanterne har forskellige alleler (f.eks. AA og aa), bliver alle afkomplanterne i F1-generationen heterozygotiske (Aa). Foto: Henny Rasmussen.

mere homozygotiske, og efter op til 10 års indavl vil efterkommerne fra en plante, som er udvalgt som basis for en ny sort, være homozygotisk i næsten alle loci.

For at reducere produktionstiden for en ny ensartet sort af byg og hvede er der udviklet teknikker til at fremstille planter, som bliver homozygotiske i alle loci i løbet af én generation. Det kan gøres ved to meget forskellige metoder, som begge har en fase med en haploid plante, der efterfølgende kromosomfordobles. Slutresultatet bliver en dobbelt-haploid plante. Ved den ene metode bestøves planten med pollen fra en anden art, som den ikke kan få afkom med. For eksempel kan hvede bestøves med majs pollen. Ved den anden metode dannes en haploid plante ud fra et umodent pollenkor.

Hvis en hvedeplante bestøves med pollen fra majs, kan der dannes et embryo, men kromosomerne fra majs tabes tidligt under embryoets udvikling. Der bliver ikke dannet et færdigudviklet frø, så embryoet tages ud og dyrkes frem *in vitro*. Denne plante indeholder kun det haploide kromosomsæt, som stammer fra hvedeplantens ægcelle.

Det er også muligt at få en hel plante til at vokse frem fra et umodent pollenkor (mikrospore). Der kan dyrkes hele umodne støvknapper, eller der kan dyrkes isolerede pollenkor *in vitro* på særligt tilpassede dyrkningsmedier. De fremspirede planter vil indeholde det haploide kromosomsæt fra pollenkorret.



**Figur 4.** Fra støvknap til befrugtning eller haploid plante. Den haploide kerne i det umodne pollenkornt (mikrospore) er placeret i midten af cellen lige efter meiosen. Senere dannes en vakuole, som fylder der meste af pollenkorntet, og kernen vandrer ud mod cellevæggen. Ved normal pollenudvikling (øverst) sker en deling af den haploide cellekerne, så der er to haploide cellekerner i et pollenkornt. Den ene haploide cellekerne (den generative kerne) deler sig igen, når pollenkorntet spirer på støvfanget. Disse to generative kerner transporteres til frøanlægget via pollenspiren, hvor de befrugter henholdsvis ægcellen og den centrale cellekerne, som giver ophav til frøhviden. Ved fremstilling af haploide planter (nederst) skal mikrosporerne høstes før den første kernerdeling og dyrkes *in vitro*. Så kan den haploide cellekerne dele sig, så der bliver dannet flere celler med haploide kerner indenfor pollenkorntets cellevæg. Pollenkorntets cellevæg brister efter nogle celledelinger. Herefter dannes små embryoer, som udvikles til haploide planter.

En normal hvedeplante indeholder 42 kromosomer i hver cellekerne, men en haploid hvedeplante har kun det halve antal. Haploide planter er sterile, så der skal ske en kromosomfordobling, før de kan sætte frø. Det kan i nogle tilfælde ske spontant. For byg sker det ofte. For hvede og raps er frekvensen så lav, så kromosomfordobling må induceres kemisk. Som oftest benyttes colchicin, som er et forsvarsstof fra den krokuslignende prydblade ved navn høsttidløs, også kaldet nøgen jomfru (*Colchicum autumnale*). Colchicin forhindrer dannelse af tetråde under mitosen, så kromosomerne fordobles, uden at der sker en celledeling. Behandling med colchicin medfører således, at nogle af cellerne i den haploide plante kromosomfordobles. Forudsætningen for at den haploide plante kan sætte frø er, at der er sket kromosomfordobling i det skudmeristem, som giver ophav til blomsterstanden.

Når man krydser to forældreplanter med henblik på at lave en ny sort, hvor de bedste egenskaber fra begge forældre er kombineret, opdyrkes et stort antal afkomplanter, hvorfra kun de bedste udvælges og opformeres. Ved at bruge dobbelthaploider i et forædlingsprogram frem for

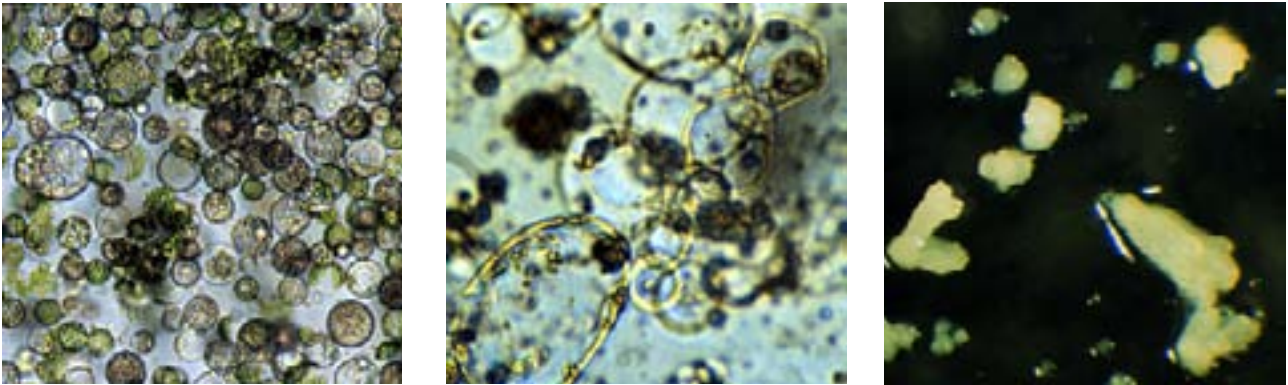
at fremstille homozygotiske linier ved indavl er det muligt at få en ny sort klar til markedsføring på 6-7 år, hvor det tidligere tog mindst ti år. Teknikkerne til fremstilling af dobbelt-haploider bruges rutinemæssigt til forædling af byg og hvede, og bruges og i forædling af andre afgrødearter som f.eks. raps.

### Nye organeller via protoplastfusion

Mitokondrier og kloroplaster indeholder DNA med relativt få men uundværlige gener. For langt de fleste plantearter nedarves disse organeller fra moderplanten. Kun i sjældne tilfælde overføres der organeller via pollen.

Ud over organellernes primære funktion i plantens energiomsætning, kan de tilføre planten eftertragtede egenskaber. For eksempel kan mutationer i mitokondriernes DNA medføre, at en plante bliver hansteril, dvs. at den mangler evnen til at danne levedygtigt pollen. Hansterilitet er en egenskab, som er særdeles nyttig, når det drejer sig om planter, fordi det gør det meget lettere at producere afgrødesorter, som er F1-hybrider mellem to indavlede forældrelinier, hvoraf den ene er hansteril. Når man høster





**Figur 5.** Protoplaster af gulerod, dannelse af cellevæg og dannelse af somatiske embryoer. Protoplaster er celler uden cellevæg. Man kan isolere protoplaster fra bladvæv eller kalluskultur, som er behandlet med cellevægsgnedbrydende enzymer. På billedet til venstre ses grønne protoplaster, som er isoleret fra kimblade samt lyse protoplaster, som er isoleret fra en kalluskultur. På billedet i midten har protoplasterne dannet cellevæg og er begyndt at dele sig. På billedet til højre er der dannet embryoer, som kan vokse videre og blive til hele planter. Kalluskulturen blev etableret fra en hansteril genotype af gulerod, hvor mitokondrierne bærer en mutation, der medfører at der ikke dannes pollen i gulerodens blomster (hansterilitet). Kimplanter var af en fertil sort af gulerod. Formålet med at blande protoplaster med forskelligt cytoplasma var at opnå en fusion og regenerere hele planter med blandet cytoplasma. Målet var at skabe en population af gulerødder med rekombinerede mitokondriegenomer med henblik på identifikation af gener, som medfører hansterilitet.

frøene fra hansterile forældrelinie, kan man være sikker på, at frøene ikke er et resultat af selvbestøvning.

Eftersom cytoplasma og organeller nedarves maternelt, kan man ikke flytte og kombinere organellernes gener ved krydsning. I stedet er det i nogen grad muligt at lave nye kombinationer af cellekerner og cytoplasma ved at fusionere isolerede celler uden cellevæg, såkaldte protoplaster. Protoplastfusion har både fundet anvendelse til forædling af nye sorter og til forskning, f.eks. i forbindelse med analyser af mitokondriegeners funktion (Figur 5).

Udgangsmaterialer for fremstilling af protoplaster kan f.eks. være kalluskultur eller ungt bladvæv. Ved behandling med cellevægsgnedbrydende enzymer, kan protoplasterne frigøres. De bliver kuglerunde, når de ikke længere begrænses af cellevæggen, og da de kun holdes sammen af plasmamembranen, skal de håndteres med stor forsigtighed.

For mere end 30 år siden lykkedes det at overføre mitokondrier fra radis (*Raphanis sativus*) til kål (*Brassica oleraceae*) ved hjælp af protoplastfusion. De overførte mitokondrier har et gen for hansterilitet, og mange af nutidens hybridsorter af kål nedstammer fra en enkelt kålcelle, som fik overført mitokondrier fra radis.

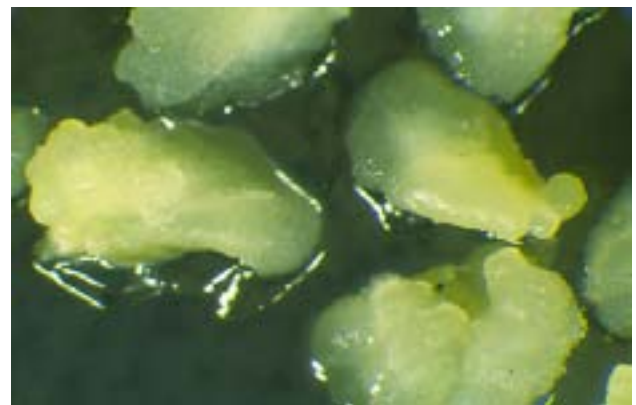
### Gensplejsede planter

Ved fremstilling af genetisk modificerede planter skal celler, som har fået et nyt gen integreret i et kromosom, kunne dele sig og danne grundlag for en ny plante. Udvikling af et vævskultursystem, hvor en transformeret celle kan udvikle sig til et somatisk embryo eller et skud, som senere kan danne rødder, er derfor en afgørende forudsætning for anvendelse af genteknologi i praksis.

For at gøre udvikling af ny teknologi lettere benyttes som regel modelsystemer. Tobak (*Nicotiana tabacum* eller *N.*

*bentamiana*) er meget lettere at arbejde med i laboratoriet end de fleste afgrødearter. For eksempel danner celler fra af tobak villigt somatiske embryoer ved dyrkning *in vitro*, og det var en medvirkende årsag til at den første gensplejsede plante, som blev beskrevet i 1984 var en tobaksplante.

Det viste sig at være meget vanskeligere at fremstille genetisk modificerede udgaver af kornarter som byg og hvede, og blandt flere store udfordringer var udvikling af vævskulturteknikker en af de største. Der dannes hverken somatiske embryoer, skud eller rødder uanset hvor længe eller hvordan et stykke af et udvokset blad fra en kornplante forsøges dyrket *in vitro*. Unge blade kan i visse tilfælde danne embryoer, men for at få det bedste resultat anvendes ofte umodne embryoer til transformation (Figur 6). Somatic embryogenesis fra umodne embryoer og regenerering af hele planter er dog kun muligt for nogle få genotyper af byg og hvede. Indsatte gener må derfor overføres fra disse genotyper til andre sorter ved krydsning.



**Figur 6.** Kallusdannelse på umodne embryoer i vævskultur. Somatic embryogenesis er en forudsætning for regenerering af hvede efter transformation. Foto: Henrik Brinch-Pedersen.





For byg er der udviklet en alternativ metode, som er mindre sortsafhængig. I byg er det muligt at transformere en befrugtet ægceller (zygote) og få den til at fortsætte sin naturlige udvikling, selvom den dyrkes *in vitro*.

## Plantedyrkning *in vitro* - nu og i fremtiden

Når man køber kartofler, kan man være 100% sikker på, at de stammer fra planter, som har været igennem meristemkultur for at sikre, at læggekartofterne er fri for virus sygdomme. Når man køber brød, er der meget stor sandsynlighed for at hvedemelet kommer fra dobbelt-haplodide planter. Køber man blomkål, kan det nedstamme fra en plante, som for årtier siden fik mitokondrier fra radis ved hjælp af protoplastfusion. Hvis man betaler for sine varer med kontanter, kan man regne med, at pengesedlerne er lavet af gensplejset bomuld.

Metoder til dyrkning af planteceller i beholdere under sterile forhold på et nøje tilpasset dyrkningsmedium er kommet for at blive, og udviklingen fortsætter. Blandt de nye tiltag er forsøg på at efterligne planters evne til at producere frø. Formering af afgrøder med stiklinger eller knolde er meget mere ressourcerævende end formering mvia frø. Desuden er der risiko for spredning af plantesygdomme.

For mange vegetativt formerede arter er det muligt at danne somatiske embryoer. I fremtiden vil det måske blive muligt at indkapsle somatiske embryoer eller meristemer og få dem til at gå i hvile ligesom embryoet i et almindeligt frø. Hvis det lykkes, kan de transporteres, opbevares og sås ligesom almindelige frø. Synkronisering af embryoudviklingen i bioreaktorer, udvikling af medium til indkapsling og manglende tolerance overfor udtørring er blandt udfordringerne.

Dyrkning *in vitro* er også relevant, når der er tale om planteceller, som er designet til at producere komplekse stoffer med medicinsk potentiale. Dels kan man sikre høj kvalitet og renhed af produktet ved at dyrke plantecelleren under konstante forhold. Dels er det en sikkerhedsmæssig fordel at dyrke medicin i en lukket bioreaktor frem for på en mark.

## Ordforklaringer

**Differentiere:** Specialisering af celler til væv, som f.eks. blad eller rod

**Diploid:** Organisme eller celle, der indeholder to sæt kromosomer (2n)

**Dobbelt haploider:** Kromosomfordoblede haploider

**Dyrkningssubstrat:** Flydende eller fast næringssubstrat, som bruges til dyrkning af planteceller i vævskultur. Det indeholder makro og mikronæringsstoffer, kulhydrater og evt. plantehormoner

**Emaskulere:** Fjerne støvknaver fra blomst før de har frigivet pollen

**Embryo:** Kim

**Genom:** Den totale genetiske information, der bæres af et enkelt sæt kromosomer

**Gensplejsning:** Begrebet bruges både om splejsning af DNA-

molekyler udenfor en levende organisme og om overførsel og integration af DNA-fragmenter i en levende organismes genom. Se også transformation

**Haploid plante:** Plante med kun et kromosomsæt

**Herbicidtolerance:** Mange afgrøder er naturligt tolerante overfor visse herbicider, men der bliver også indsat mikrobielle gener i planter, som giver tolerance overfor f.eks. glyphosat

**Homozygot:** En organisme eller celle, der har samme alleler for et givet locus på alle kromosomer.

**In vitro dyrkning:** Dyrkning af plantemateriale på sterilt dyrkningsmedium

**Kallus:** Udifferentierede planteceller, som dannes, når planten heler et sår eller når planteceller dyrkes i vævskultur

**Ledningsstreng:** Kar til transport af vand og næringssalte (xylem/vedvæv) og organiske forbindelser (Phloem/sivæv)

**Meristem:** Vækstpunkter, hvor cellerne vedvarende deler sig

**Mitose:** Vegetativ celledeling, hvor der dannes nye celler, der er genetisk ens med modercellen

**Mutationer:** Deletioner, insertioner eller baseændringer i genomet

**Plasmodesmata:** Små åbninger i cellevæggen der forbinder cytoplasma i naboceller

**Protoplaster:** Planteceller uden cellevæg

**Regenerering:** Udvikling af en plante fra kallus eller somatiske embryoer

**Selektore:** Udvælgelse

**Somatiske embryoer:** Kim dannet fra vegetativ celle

**Transformation:** Overførsel og integration af DNA-fragmenter i en levende organismes genom. Se også gensplejsning.

**Zygote:** Befrugtet ægcelle

## Om forfatterne

Inger Bæksted Holme er agronom fra Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole (nu KU-SCIENCE), Master of Plant Science fra University of Idaho og ph.d. fra Det Naturvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet. Hun har bl.a. arbejdet med mikroformer af elefantgræs, mikrospekulatur af byg og hvede og udvikling af nye metode til transformation af byg uden bruge af selektionsgener. Inger Bæksted Holme er ansat ved Institut for Molekylærbiologi og Genetik, Forskningscenter Flakkebjerg, Aarhus Universitet.

Inga Christensen Bach er hortonom og ph.d. i planteforædling og bioteknologi fra Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole (nu KU-SCIENCE). Hun har bl.a. arbejdet med virusresistens, protoplastfusion og kortlægning af mitokondriegenere og transformation af hvede. Inga Christensen Bach er ansat ved Institut for Plante- og Miljøvidenskab, Københavns Universitet og er desuden skrivende redaktør af Planteforskning.dk.

