INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

TENTO PROJEKT JE SPOLUFINANCOVÁN EVROPSKÝM SOCIÁLNÍM FONDEM
A STÁTNÍM ROZPOČTEM ČESKÉ REPUBLIKY

Téma 02: Primární meristémy, meristémy vegetativní a generativní

Úvod
Aktivita meristémů umožňuje růst (obecně označovaný jako primární růst, někdy také vegetativní), kterým jsou tvořeny nové orgány a vede ke zvýšení délky stonku a kořenů a zvětšování počtu listů. Po přeměně meristémů vegetativních na meristémy generativní vede jejich aktivita i k vývoji generativních orgánů umožňujících generativní rozmnožování.
Úkolem cvičení je pozorovat vegetativní apikální a axilární stonkové meristémy na podélných parafínových řezech klíčních rostlin huseníčku a tabáku a generativní meristémy tabáku.

A. Apikální meristém *Arabidopsis*

Materiál: huseníček *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.
podélný parafínový řez klíční rostlinou 2, 7 nebo 15 dnů od výsevu na agarem ztužené Murashige-Skoogovo médium

Několik různých transgenních linií se systémem transkripční aktivace pOp-ipt-GUS/LhG4 odvozených od ekotypu Columbia. Aktivátorové linie huseníčku CaMV35S-LhG4 poskytl profesor Klaus Palme (Max Planck Institute, Kolín nad Rýnem, Německo). Reportérové linie huseníčku byly odvozeny pomocí vakuové infiltrace suspenze *Agrobacterium tumefaciens* v Laboratoři funkční genomiky a proteomiky na Přírodovědecké fakultě Masarykovy univerzity v Brně. Aktivace transkripce konstruktu pOp-ipt-GUS byla provedena křížením aktivátorové a reportérové linie (Guo Jianchun 2002).

Ihned po odběru rostlinných vzorků byla provedena jejich fixace pomocí fixáže CRAF II (**ch**romic acid – **a**cetic acid – **f**ormaldehyd) (Lux, Erdelská a kol. 1998), v ledničce přes noc. U starších klíčních rostlin byly ještě před fixací odstraněny dělohy (popř. i pravé listy) kvůli lepší orientaci vzorků v parafínu a větší přehlednosti podélných řezů.

Etanolovou dehydratační řadou a xylenem byly objekty přeneseny do parafínu. Odparafínované řezy byly nabarveny podvojným barvením: Safranin – Fast Green (Jensen 1962) a po odvodnění byly řezy uzavřeny do syntetické pryskyřice Eukitt®.

Vyhledejte na sériových řezech stonkový apikální meristém, zakreslete mediánní řez, event. proveďte jeho fotodokumentaci. Na schématu popište jednotlivé struktury řezu.

B. Apikální a axilární meristém tabáku *Nicotiana tabacum* L.

Materiál: tabák *Nicotiana tabacum* L. cv. Petit Havana SR1 a dvě nezávislé transgenní homozygotní linie s chemicky indukovatelnou expresí *ipt* pomocí transkripčně aktivovatelného systému pOp::ipt/CaMV35S::LhGR, označené 303 a 307. Aktivací dexamethasonem byla v transgenních rostlinách spuštěna biosyntéza cytokininů.
Rostliny byly vypěstovány výsevem semen do substrátu a kultivovány v klimaboxech Percival po dobu 5 týdnů při fotoperiodě 16h/8h, intenzitě osvětlení 120 µmol fotonů.m^{-2}.s^{-1}. Teplota kultivace 24ºC ve dne, 21ºC v noci. Fixace vzorků byly provedena ve směsi FAA.

Butanolovou dehydratační řadou byly objekty přeneseny do parafínu. Odparafínované řezy byly nabarveny podvojným barvením alciánovou modří a jadernou červení (Beneš a Kamínek, 1973). Po odvodnění byly řezy namontovány do syntetické pryskyřice Eukitt®.

Vyhledejte na sériových řezech stonkový apikální meristém, zakreslete mediánní řez, event. proveďte jeho fotodokumentaci. Na schématu popište jednotlivé struktury řezu. Posuďte, zda se jedná o vegetativní nebo generativní meristém.

Na řezech segmentů stonků vyhledejte podélný řez axilárním meristémem a dokumentujte jej podobně jako u apikálních meristémů.

Literatura

Beneš, K. *et* Kamínek, M. (1973): The use of aluminium lake of nuclear fast red in plant material succesively with alcian blue. - Biologia Plantarum, 15 (4): 294 – 297.

Jensen W.A. (1962): Botanical Histochemistry. Principles and Practice. – W.H. Freeman a spol., San Francisco – London.

Lux A.,Erdelská O. et al. (1998): Praktikum z anatómie a embryológie rastlín. – Skriptum Univ. Komen., Bratislava.