



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 parařinových řezech klíčnicích rostlin huseníčku a tabáku a generativní meristémy tabáku.

A. Apikální meristém *Arabidopsis*

Materiál: huseníček *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

podélný parařinový řez klíčnicí 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 konstruktů 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 (chromic acid – acetic acid – formaldehyd) (Lux, Erdelská a kol. 1998), v ledničce přes noc. U starších klíčnicích rostlin byly ještě před fixací odstraněny dělohy (popř. i pravé listy) kvůli lepší orientaci vzorků v parařinu a větší přehlednosti podélných řezů.

Etanolovou dehydratační řadou a xylenem byly objekty přeneseny do parařinu. Odparařinované 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 $\mu\text{mol fotonů}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Teplota kultivace 24°C ve dne, 21°C v noci. Po zálivce s přidavkem dexamethasonu (DEX)

nebo kontrolním blankem (K) byly odebírány apikální segmenty a určité stonkové nody pro hodnocení vlivu exprese *ipt* na vývoj apikálních a axilárních meristémů. Doby odběru byly 1, 3 a 5 dní po zálivce. Fixace vzorků byla provedena ve směsi FAA. Butanolovou dehydratační řadou byly objekty přeneseny do parafínu. Odparafinované řezy byly nabarveny podvojným barvením alcianovou modří a jadernou červení (Beneš a Kamínek, 1973). Po odvodnění byly řezy namontovány do syntetické pryskyřice Eukitt®.

Vyhleďte na preparátech se sériovými řezy stonkový apikální meristém, zakreslete mediální řez, event. proveďte jeho fotodokumentaci. Na schématu popište jednotlivé struktury řezu. Posuďte, zda se jedná o vegetativní nebo generativní meristém.

Na řezech nodálních segmentů stonků vyhleďte 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 successively 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 embryologie rostlin.* – Skriptum Univ. Komen., Bratislava.