

MIKRORELIÉFOVÁ METODA

Úkol: Pozorování povrchu neprůhledných objektů

Povrch neprůhledných objektů není možné studovat v běžném biologickém mikroskopu, který pracuje v procházejícím světle. V případě takové potřeby lze použít buď mikroskopii v dopadajícím světle (to vyžaduje jinou konstrukci mikroskopu) nebo můžeme pozorovat strženou povrchovou vrstvu (epidermis). Izolace epidermis u některých taxonů však není snadná nebo je zcela nemožná. Tyto problémy mohou být překonány použitím mikroreliefové metody.

Princip mikroreliefové metody spočívá v tom, že rostlinná pokožka nemá rovný povrch. Její buňky jsou nejčastěji ve středu své plochy vypuklé, kdežto nad postranními (antiklinálními) buněčnými stěnami epidermálních buněk je povrch snížený. Stejně nerovné jsou povrchy svěracích buněk průduchů. Jestliže na takový nerovný povrch pokožky nanese vrstvičku rychle tuhnoucí kapalně průhledné hmoty, získáme odlitek (otisk) jejího mikroskopického reliéfu = **mikrorelief**, který po sejmutí můžeme snadno pozorovat.

Metoda se používá k demonstraci stavby epidermis listu, k lokalizaci a uspořádání průduchů, dále k orientačnímu stanovení stupně ploidie, v taxonomii při hledání diakritických znaků, ve fyziologických pokusech (vodní provoz, minerální výživa rostlin), v kriminalistice apod. Výhodou této metody je rychlost a nízké náklady.

Materiál = listy různých rostlin:

- *Begonia semperflorens* – begónie (kysala), „voskovka“
- *Pteris cretica* – křídelnice krétská (kultura *in vitro*)
- *Nephrolepis exaltata* – nefrolepis (ledviník)
- *Cyperus alternifolius* – šáchor střídavolistý
- *Tradescantia albiflora* (syn. *T. viridis*) – poděňka, „blázen“
- *Chlorophytum comosum* – zelenec cůpkatý
- *Plantago lanceolata* – jitrocel kopinatý
- *Taraxacum officinale* – smetánka lékařská
- *Rosa canina* – růže šípková
- *Acer pseudoplatanus* – javor klen
- *Chelidonium majus* – vlaštovičník větší, apod.

Pomůcky :

Mikroskop, preparační souprava, bezbarvý lak na nehty, izolepa

Postup :

1. Na povrch rubu listu nanese tenkou vrstvu bezbarvého laku na nehty o ploše asi $0,5 \text{ cm}^2$ a necháme dobře zaschnout. Vybíráme pokud možno co nejrovnější plochu.
2. Dostatečně zaschlou vrstvu laku sejmem pomocí pinzety a vložíme do kapky vody na podložním skle.
3. Přikryjeme krycím sklem.
4. Preparát pozorujeme v mikroskopu ve světlém poli, pro zvýraznění struktur je vhodné použít šikmé osvětlení, které kontrastuje hrany souběžné s optickou osou a zvětšuje rozlišovací schopnost.
5. Zakreslíme tvar epidermálních a průduchových buněk, zjistíme, zda jsou vyvinuty rovněž tzv. vedlejší buňky . Pokusíme se klasifikovat stomata podle počtu, tvaru a uspořádání vedlejších buněk

V jiné variantě postupu je možné snímat lakový otisk z povrchu listu pomocí čtverečku izolepy, který nalepíme na povrch listu přes zaschnutou lakovou vrstvu. Potom izolepu strhneme a přilepíme na podložní sklo. Získáme tak víceméně trvalý preparát, který je možné studovat i s časovým odstupem.

Poznámka:

Mikroreliéfovou metodu můžeme používat při studiu povrchu všech listů, které nejsou opatřeny mnoha trichomy. Tuto metodu není výhodné používat u taxonů, které mají vyvinutou silnou kutikulu, která může zahlazovat nerovnosti v mikroreliéfu nebo naopak vytvářet různé struktury (např. vlnky) na povrchu epidermálních buněk a zastírat tak vlastní strukturu epidermis. Otisky odebíráme zpravidla ze spodní (abaxiální) strany listu, protože spodní epidermis většinou obsahuje více průduchů a bývá méně znečištěna. Je nutné si uvědomit, že nepozorujeme pokožku, ale pouze její otisk. Nemůžeme tedy pozorovat obsah buněk, ale jenom povrchové struktury epidermis nebo kutikuly.

Výsledky: Kresba otisku mikroreliéfu listu vybraných rostlin s popisem.

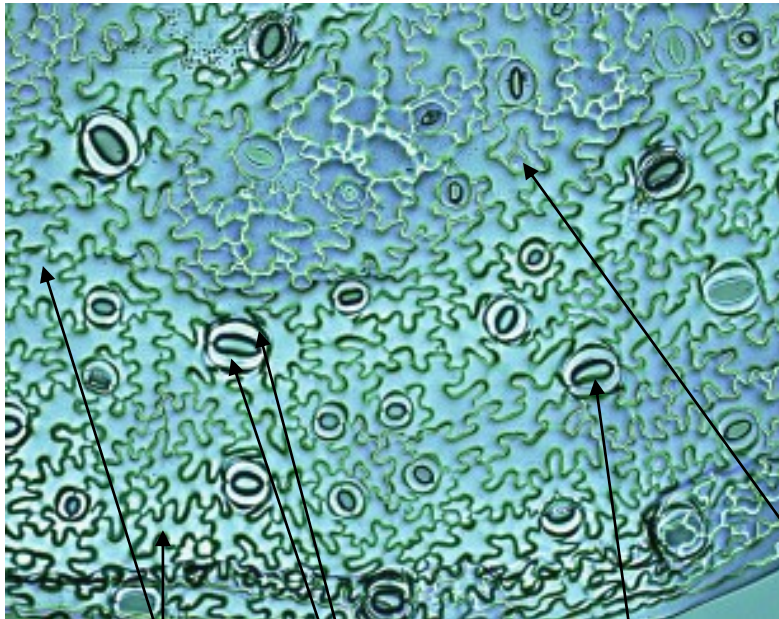
Závěry:

Hodnocení výsledků použití metody otiskových preparátů a vlastního pozorování.

Literatura:

1. Opravilová, V., Knoz, J. *Základy mikroskopické techniky*. Brno: Masarykova univerzita, Vyd. 1. 1992.
2. Pazourková Z. *Botanická mikrotechnika*. Praha: Univerzita Karlova, Vyd. 1, 1982.

Příklad otisku mikroreliefu povrchu dělohy tabáku



epidermální buňky

svěrací buňky průduchu

štěrbina průduchu

mateřská buňka průduchu