



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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

Téma 08: **Pozorování prorůstání pylových láček na roztlakových preparátech čnělek**

Hodnocení růstu pylových láček čnělkou je důležité především při hybridizačních experimentech. Před barvením se čnělky fixují a macerují, aby bylo možné roztláčení jejich pletiv do jedné vrstvy. Intenzita a doba macerace závisí na konzistenci čnělky. Roztláčování provádíme v roztoku barviva selektivně barvícího kalózu v pylových láčkách.

Materiál: pestíky lilie (*Lilium* hybr.)

Vzorky čnělek s bliznami:

1. blizna opylená pylem z květu jiné rostliny (odběr **5 dní po opylení**)
2. blizna opylená květem z jiného květu stejné rostliny (odběr **5 dní po opylení**)
3. blizna - **neopylená kontrola**
4. blizna opylená pylem stejného květu (odběr **15 hodin po opylení**)
5. blizna opylená pylem stejného květu (odběr **15 hodin po opylení**)
6. blizna staršího květu – **neopylená kontrola**
7. blizna staršího květu – **neopylená kontrola**

fixáž: ethanol – octová (70% EtOH : ledová kyselina octová 1:1) – fixováno 2011 po dobu 24 hod.

oplach a uložení v 70% EtOH 4 dny (10. – 14.11.2011)

projasnění, macerace a barvení podle protokolů A a B (v praktiku 2011)

60% kyselina mléčná

barvení: 1% roztok bavlníkové modři (anilin blue) v laktofenolu (fenol, kyselina mléčná, glycerol, voda - v poměru 2 : 1 : 2 : 1)

opláchnutí barviva a uložení do roku 2012 - koncentrovaná kyselina mléčná

A. Barvení pylových láček v čnělce po maceraci vroucí vodou

Postup:

1. Fixace čnělky v ethanol – octové fixáži 30 minut až několik hodin.
2. Macerace ve vroucí vodě 5 – 10 minut, silnější a tvrdší čnělky až 25 minut.
3. Projasňování v 60% kyselině mléčné asi 30 min. při teplotě 60°C.

4. Barvení ve směsi barviva 30 – 60 min. při teplotě 60°C.
5. Opláchnutí barviva v kyselině mléčné a uzavření čnělky pod krycí sklo do kyseliny mléčné.
6. Roztlačení pletiv jemným tlakem na krycí sklo.

B. Barvení pylových láček v čnělce po maceraci v 1N HCl

(podle doporučení prof. Bohdana Rodkiewicza, Univerzita M.C. Skłodowské, Lublin, Polsko)

Postup I.:

1. Fixace čnělky v ethanol – octové fixáži 30 minut až několik hodin.
2. Macerace v 1N-HCl asi 10 minut.
3. Důkladné promytí vodou.
4. Barvení ve směsi barviva 30 – 60 min. při teplotě 60°C.
5. Opláchnutí barviva v kyselině mléčné a uzavření čnělky pod krycí sklo do kyseliny mléčné.
6. Roztlačení pletiv jemným tlakem na krycí sklo.

Výsledek:

Pylové láčky se barví intenzivně modře ve srovnání s okolními pletivy.

Hodnocení:

Preparát pozorujeme v procházejícím světle. Srovnáme a vyhodnotíme výsledky obou postupů barvení.

Literatura:

Lux, A., Erdelská, O. (1998): Praktikum z anatomie a embryologie rostlin. Bratislava : Univerzita Komenského, 135 s. ISBN 80-223-1229-0.