

Rychlá cytologická metoda

Roztlakové preparáty

Materiál: kořenové špičky rostlin

Definice meristému

- v raném vývoji embrya se dělí všechny buňky = **protomeristém**
- později je dělení buněk omezeno pouze na **malé oblasti** = **primární meristémy** - buňky si zachovávají embryogenní charakter a schopnost dělení (**apikální meristém stonkový, kořenový, axilární meristémy**) - apikální meristémy začínají svou aktivitu po ukončení embryonálního vývoje, jejich činností vznikají nové buňky, které po diferenciaci vytvářejí celé rostlinné tělo
- **sekundární meristémy** - kambium a felogén

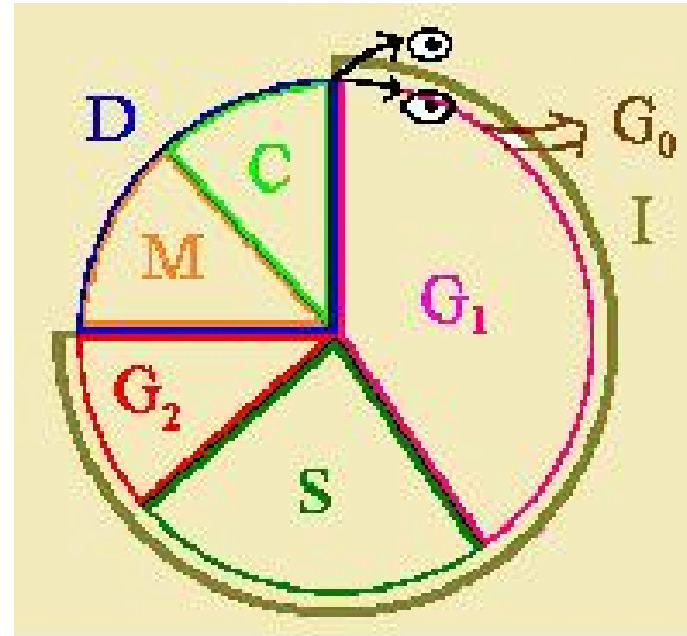
Charakteristika meristematických buněk

- malé, izodiametrální nebo protáhlé buňky
- tenká buněčná stěna, žádné interceluláry
- velké jádro (jádro-plasmový poměr)
- velká hustota protoplastu = malé vakuoly

Buněčný cyklus

mujweb.cz/Veda/biologie/b.cyklus.htm

I (interfáze): doba, kdy se buňka připravuje na dělení, tj. G_1 , S a G_2 fáze



G_0 fáze: buňka se nedělí, je součástí trvalého pletiva

G_1 fáze (z ang. gap = mezera): na buňce není pozorovatelné co se v ní děje, probíhá syntéza RNA a bílkovin

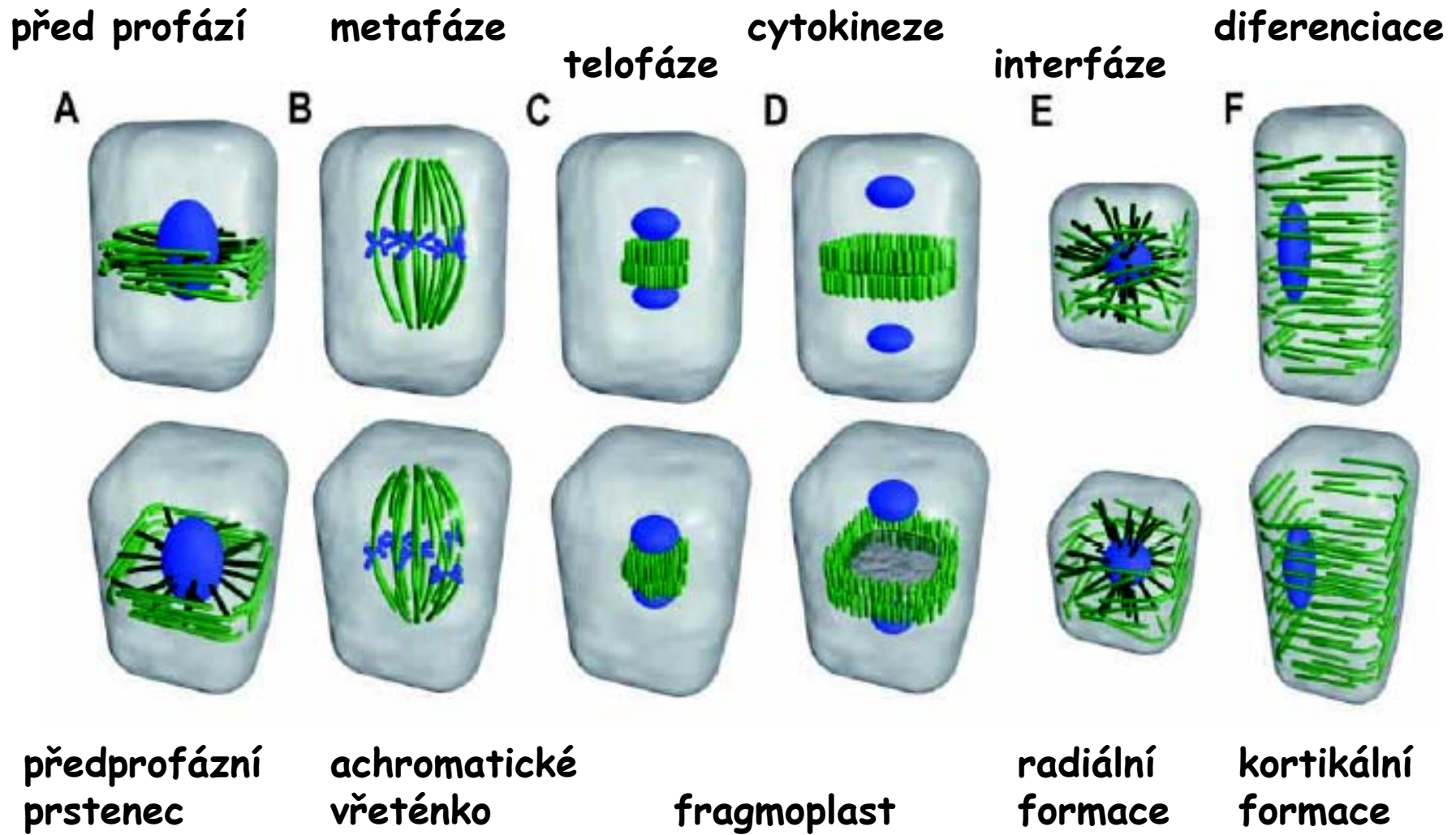
S (syntetická) fáze: syntéza DNA

G_2 fáze: syntéza bílkovin pro vznik a dělení jádra (histony a mikrotubuly)

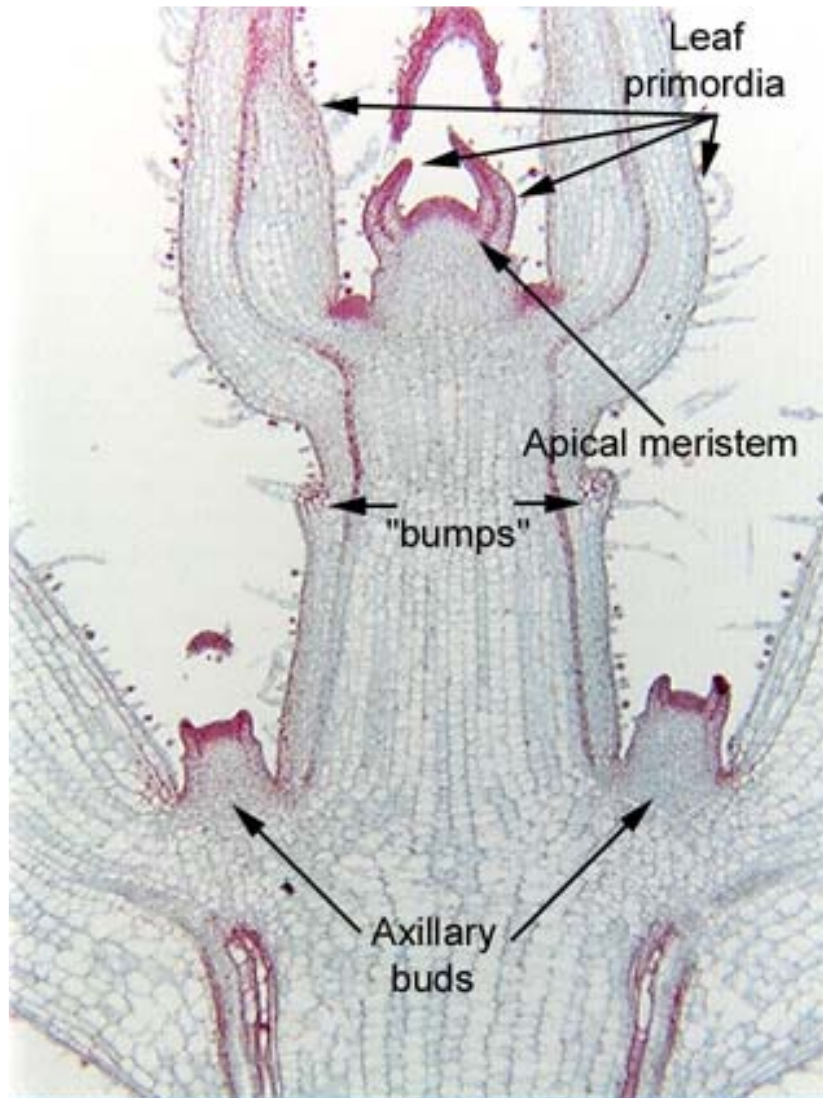
M fáze (mitóza): nepřímé dělení jádra

C fáze (cytokineze): dělení celé buňky

Formace cytoskeletu v průběhu buněčného cyklu



Podélný řez apexem stonku *Coleus*

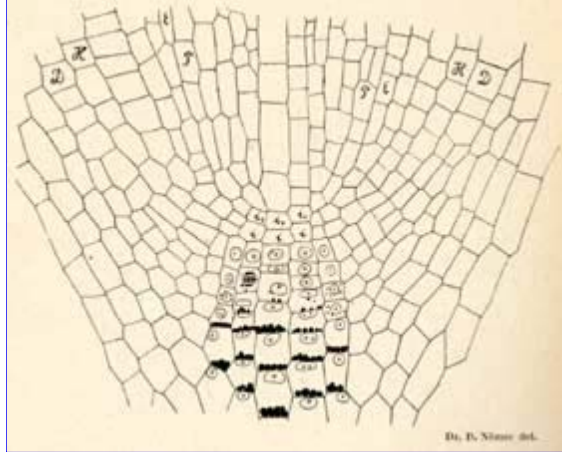
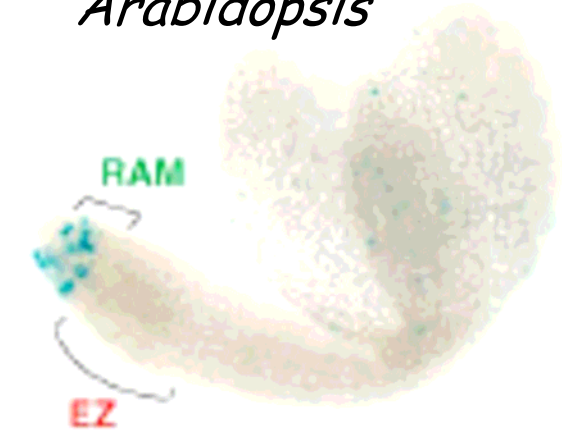


příklad stavby a
lokalizace stonkového
apikálního a
axilárního meristému

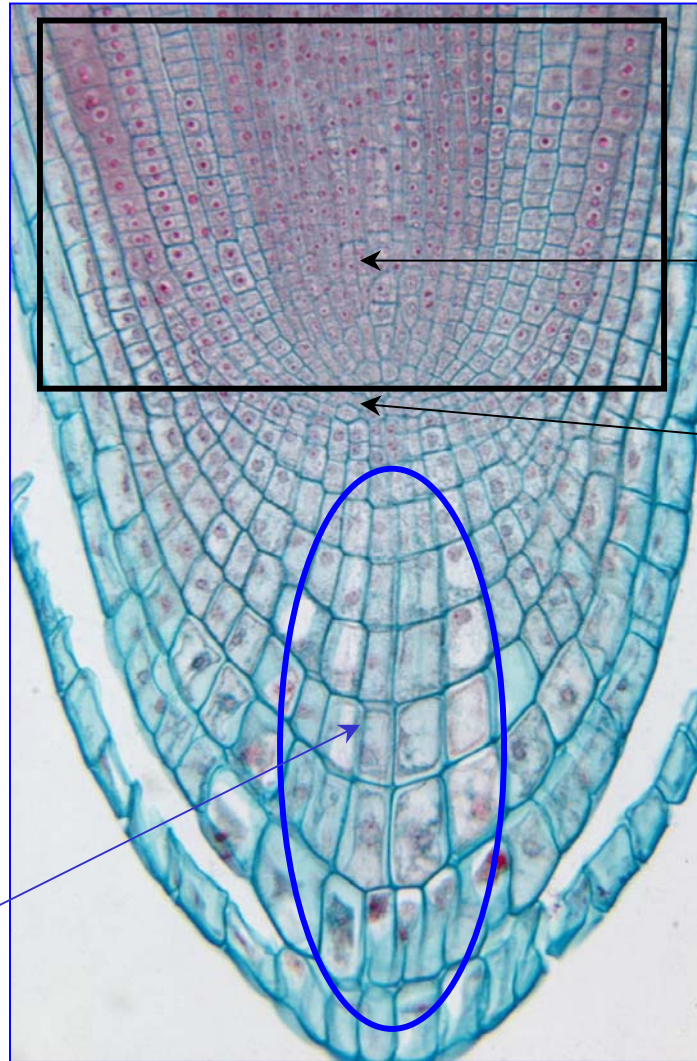
pro pozorování
jaderného dělení
Ize použít i listová
primordia

Kořenový apikální meristém

Arabidopsis



kolumela = střední sloupek kořenové čepičky



vlastní meristém

klidové centrum

kořenová čepička

Linum

Dělení barviv podle původu

- přírodní

karmín - červec nopálový

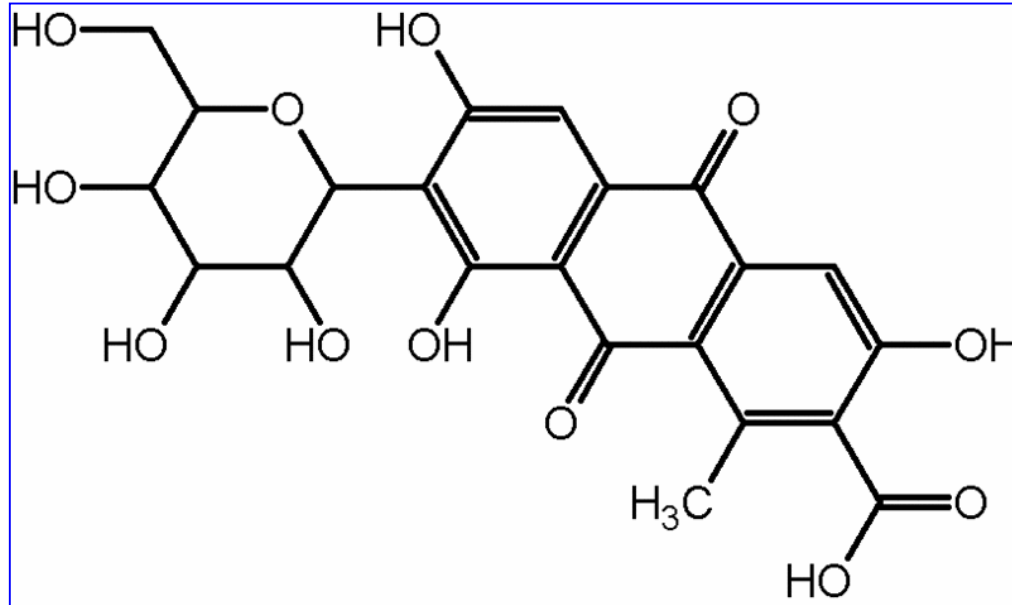
orcein - lišejníky (*Lecanora*, *Roccella*)

hematoxylin - dřevo kampešky (*Haematoxylon campechianum*)

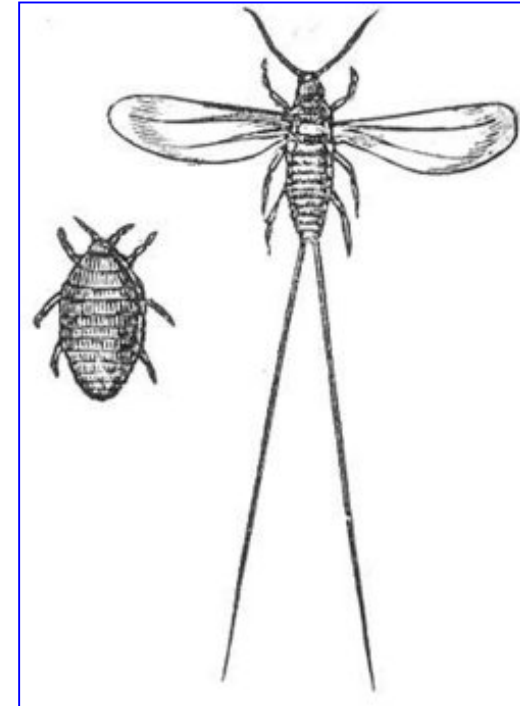
brasilin - dřevo druhů rodu *Caesalpinia* (*Caesalpinia sappan*, *C. brasiliensis*)

- syntetická

Karmin



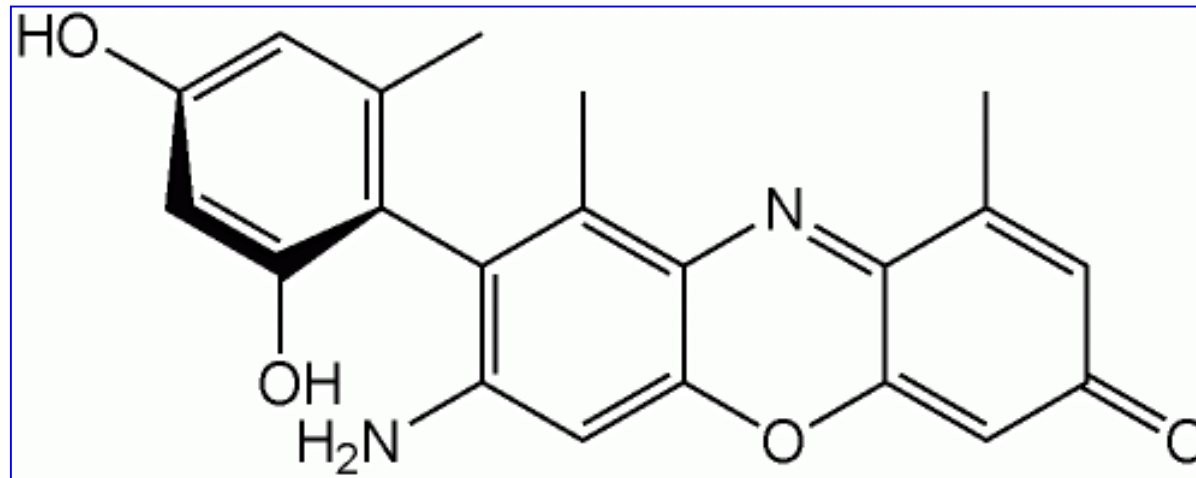
kyselina karmínová



Dactylopius coccus

Cochineal, Natural Red 4, C.I. 75470

Orcein



archil, orchil, lacmus, litmus a C.I. Natural Red 28, (E121)

červené v kyselém pH, modré v alkalickém pH

Mitotické jedy

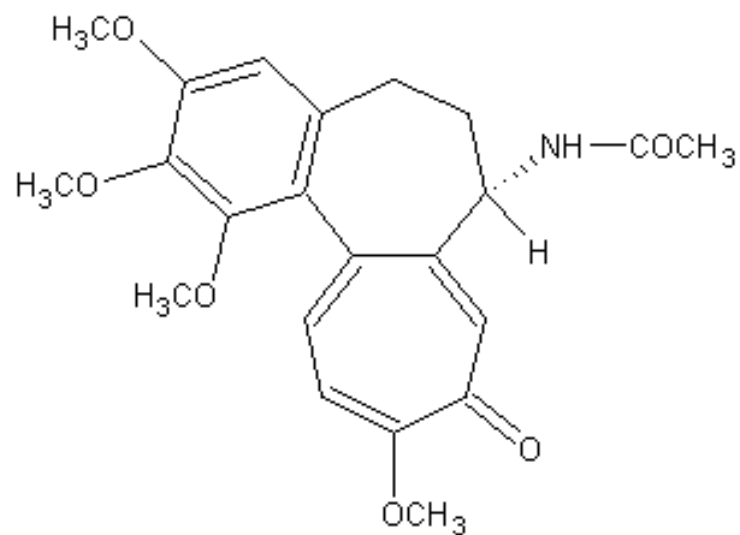
- halogenové deriváty aromatických uhlovodíků
(p-dichlór benzén, α -bróm naftalén,
8-hydroxychinolin)
- alkaloidy (kolchicin, vincristin)
- herbicidy (oryzalin)

využití:

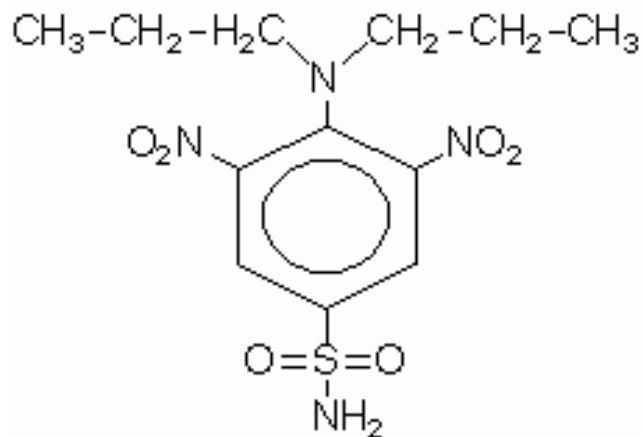
1. studium chromosomů
2. synchronizace buněčného dělení
3. dihaploidizace

Rostlinné alkaloidy a herbicidy

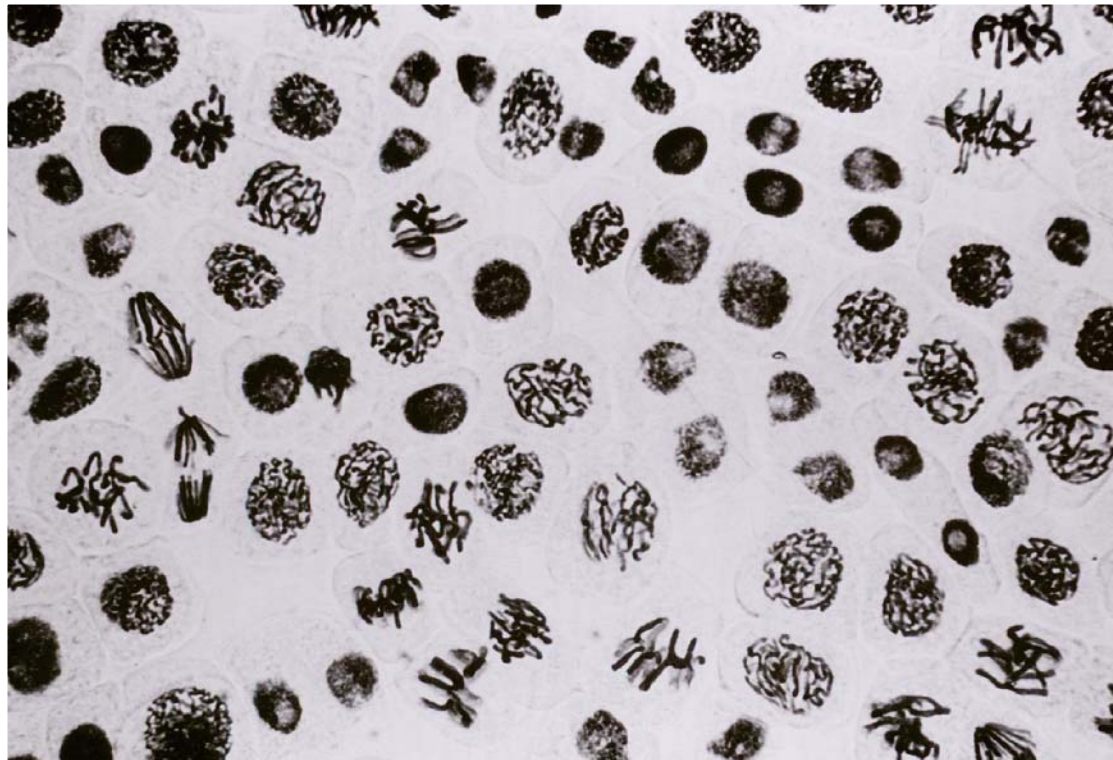
kolchicin



oryzalin



Buňky meristému kořene *Pisum*



po synchronizaci jaderného dělení oryzalinem (dr. J. Macas)

Obecný postup

předpůsobení

- **fixace** **Carnoy, Farmer**
 - **macerace** **HCl**
 - **roztlačení**
 - **barvení** **acetokarmín, laktopropionový orcein**
 - **projasnění** **levulózový sirup, glycerol**
- } fixačně-macerační směs

Fixačně-macerační směs

J. Dostál (VÚOK Průhonice)

- 1 díl 96% etanolu
- 1 díl normálního butanolu
- 1 díl ledové kyseliny octové
- 1 díl konc. HCl (35 - 36%)
- 4 díly destilované vody

Pracovní postup

Materiál: kořenové špičky

bez předpůsobení = fáze buněčného cyklu

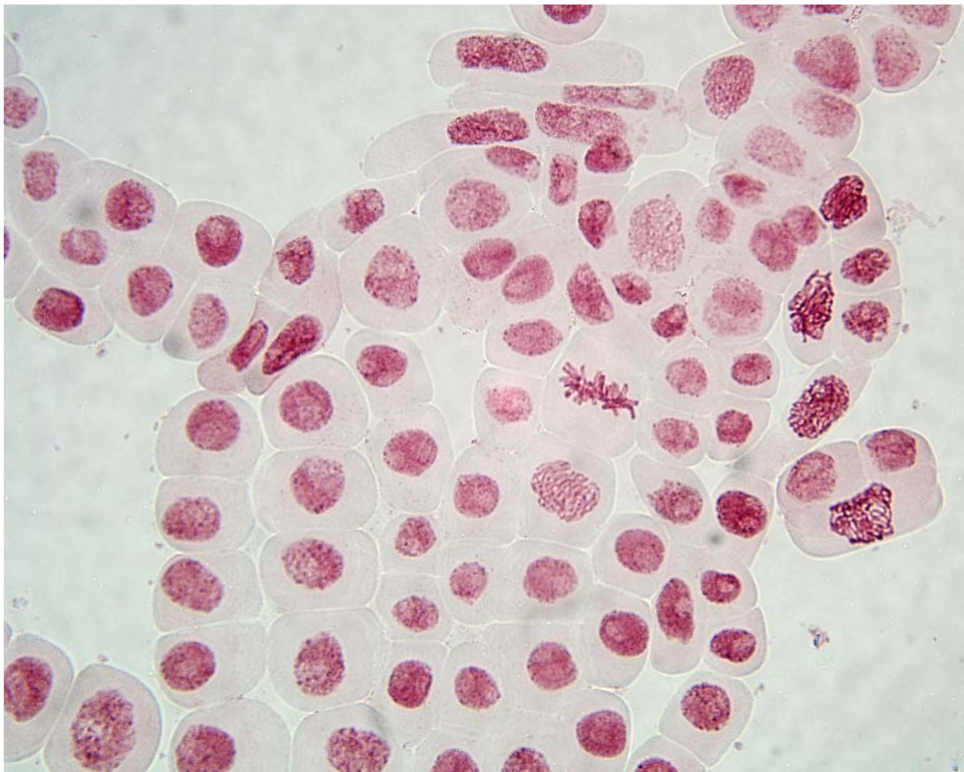
- odběr naklíčených kořenů
- fixace a macerace v činidle
- izolace kořenové špičky
- barvení laktopropionovým orceinem
- rámování lakem na nehty

předpůsobení v hydroxychinolinu = narušení cytoskeletu

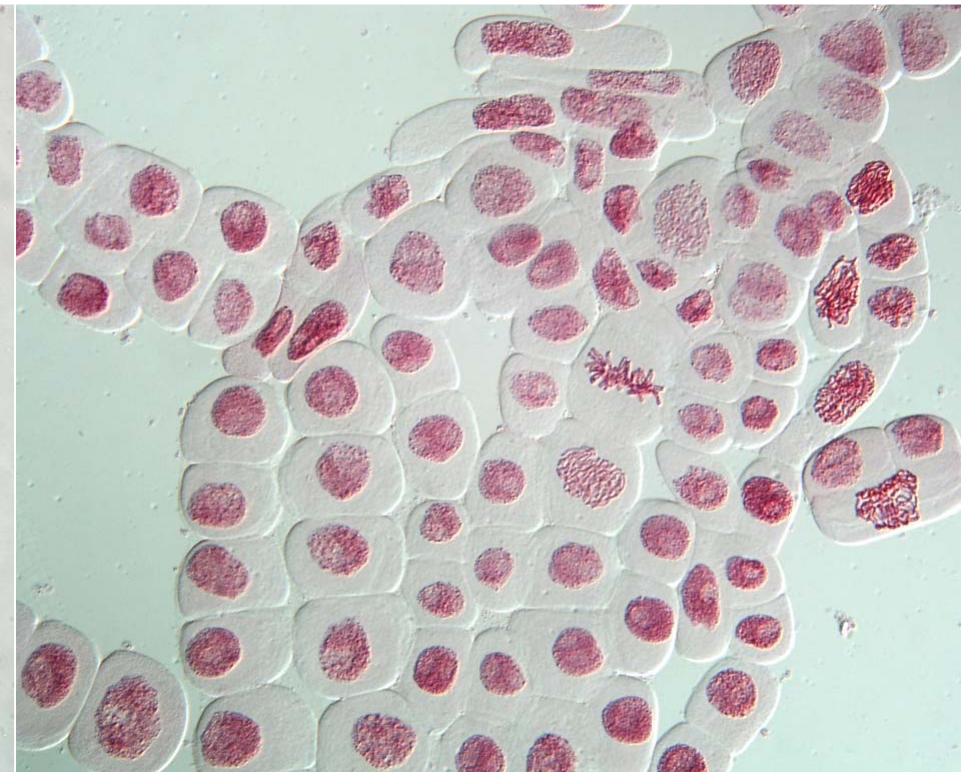
- inkubace kořenů v 0,02 M roztoku hydroxychinolinu
- odběr naklíčených kořenů
- fixace a macerace v činidle
- izolace kořenové špičky
- barvení laktopropionovým orceinem
- rámování lakem na nehty

Laktopropionový orcein

roztakový preparát *Allium cepa*



Olympus BX-51
procházející světlo



Olympus BX-51
DIC