

Rychlá cytologická metoda - studium fází mitózy

Roztlakové preparáty

Materiál: kořenové špičky rostlin

Definice meristému

- v raném vývoji embrya se dělí všechny buňky
- později je dělení buněk omezeno pouze na malé oblasti, ve kterých si buňky zachovávají embryogenní charakter a schopnost dělení (apikální meristémy = primární meristémy - kořene, prýtu) - jejich činností vznikají nové buňky, které po diferenciaci vytvářejí rostlinné tělo
- sekundární meristémy
 - kambium a felogén
 - axilární meristémy

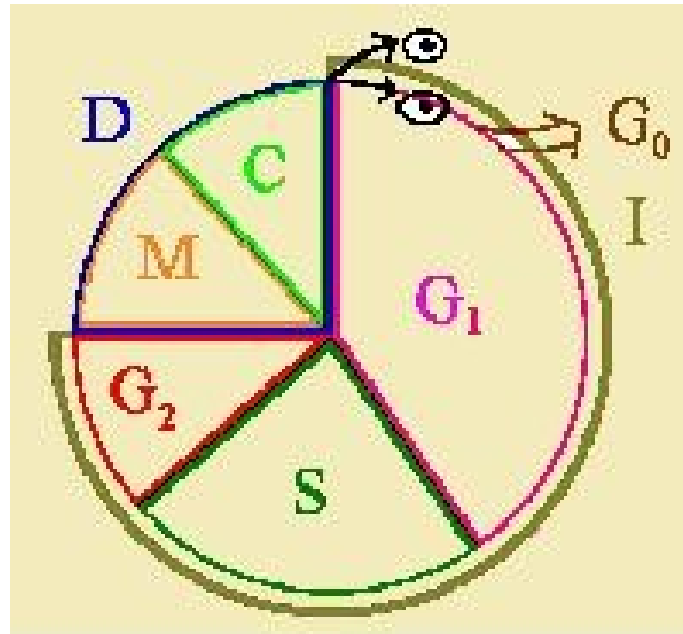
Charakteristika meristematických buněk

- malé, izodiametrické buňky
- tenká primární buněčná stěna
- velké jádro (jádro-plazmový poměr)
- velká hustota protoplastu - malé vakuoly

Buněčný cyklus

mujweb.cz/Veda/biologie/b.%20cyklus.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 pletiva

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

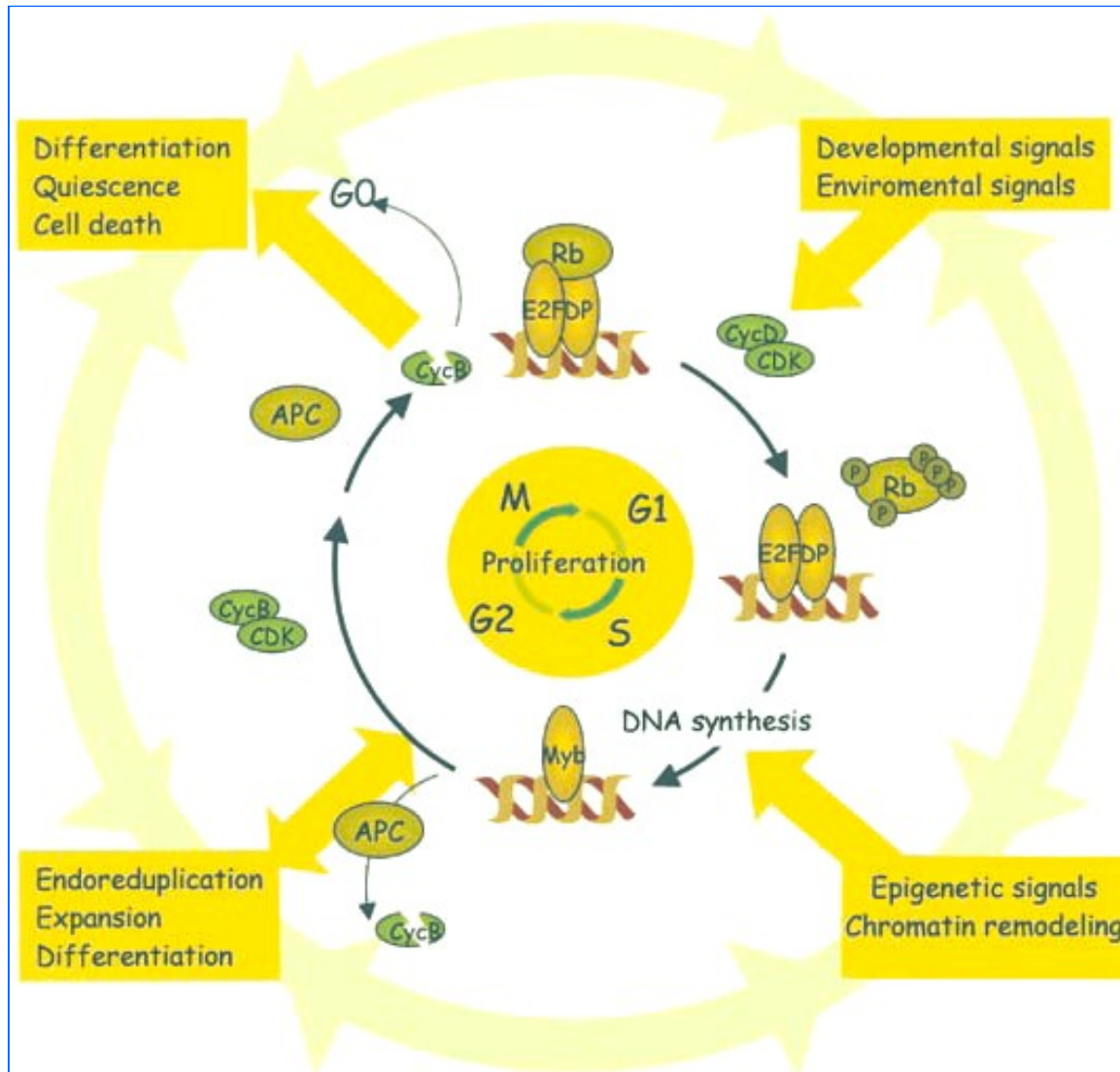
S (syntetická) fáze: syntéza DNA

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

M fáze (mitóza): nepřímé dělení jádra

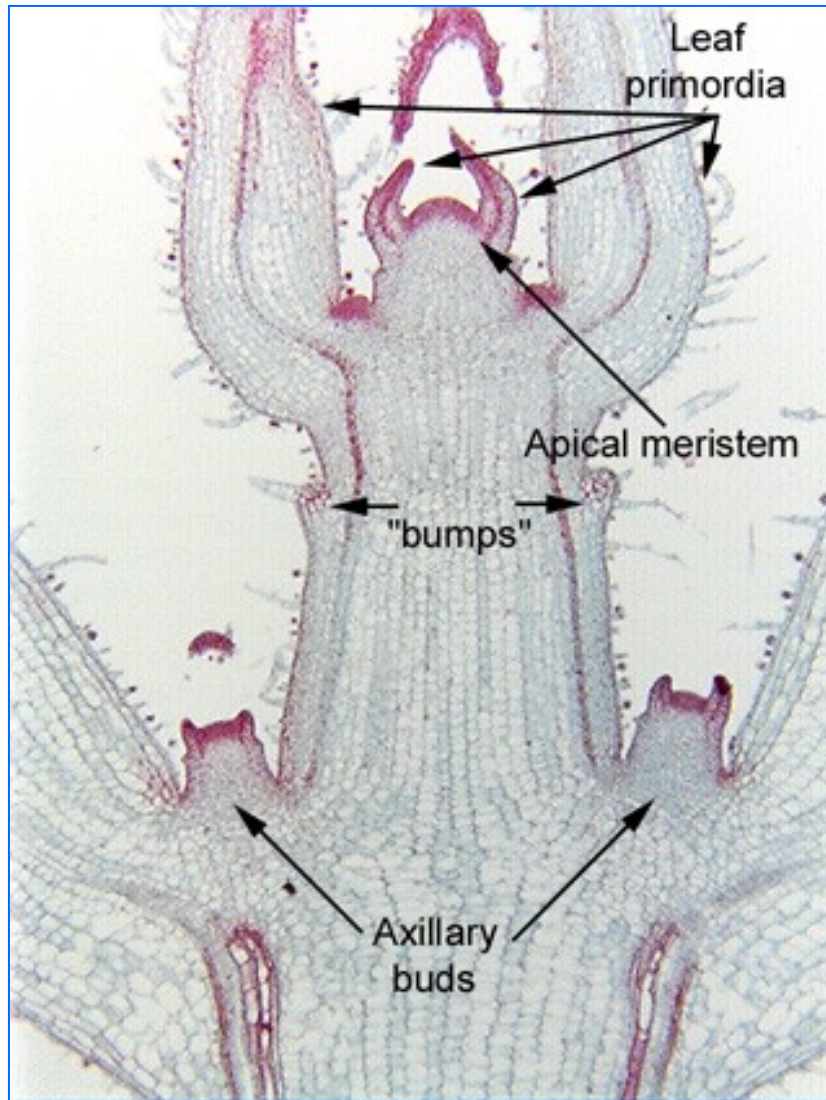
C fáze (cytokineze): dělení celé buňky

Regulace buněčného cyklu = základní proces utváření architektury rostlin



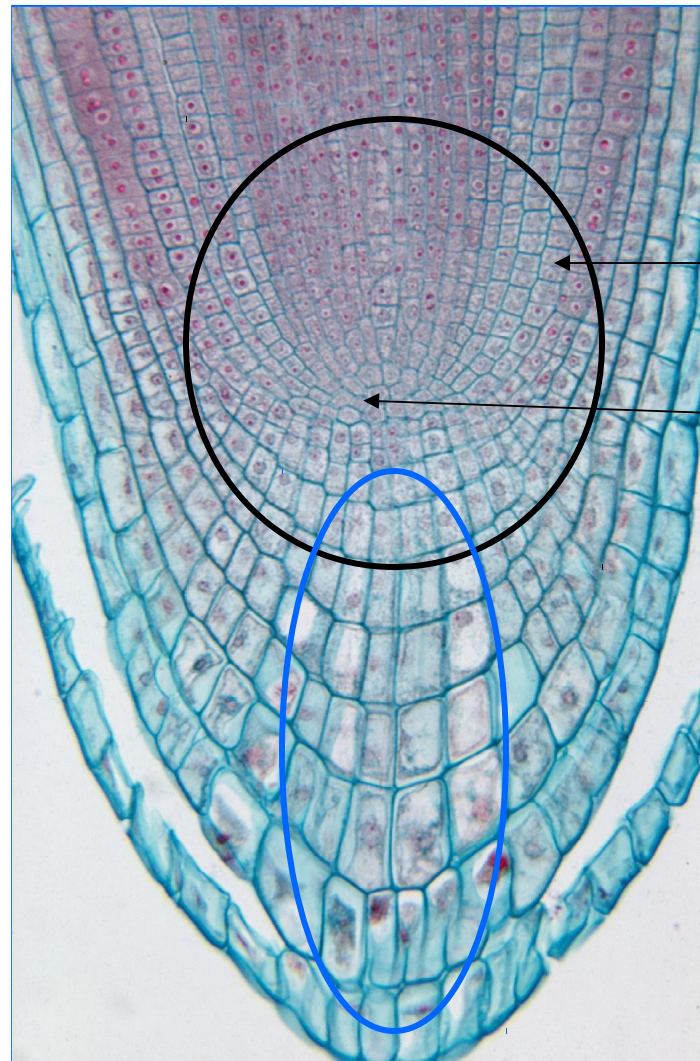
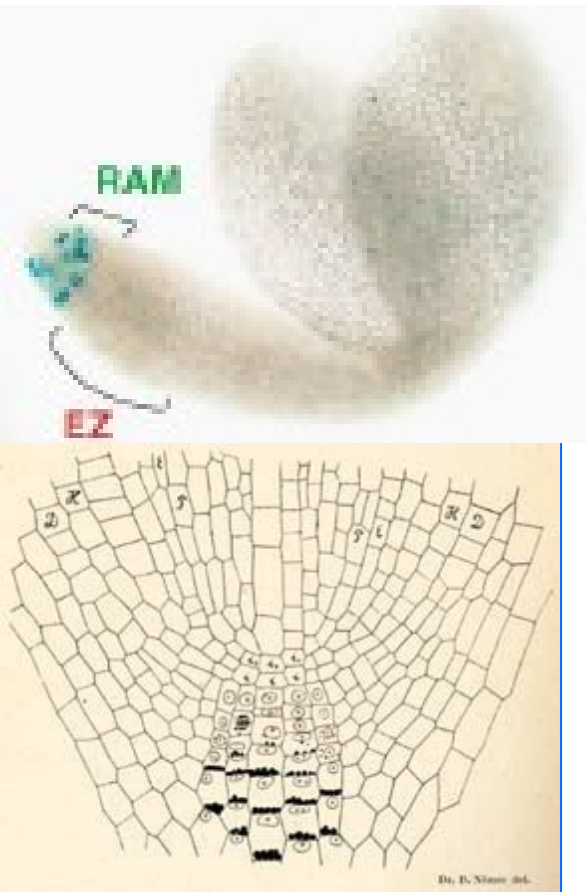
Plant Cell, Vol. 14, 11,
2002, www.plantcell.org

Podélný řez apexem stonku *Coleus*



příklad stavby a lokalizace apikálního meristému prýtu a axilárního meristému

Apikální meristém kořene u lnu (*Linum* sp.)



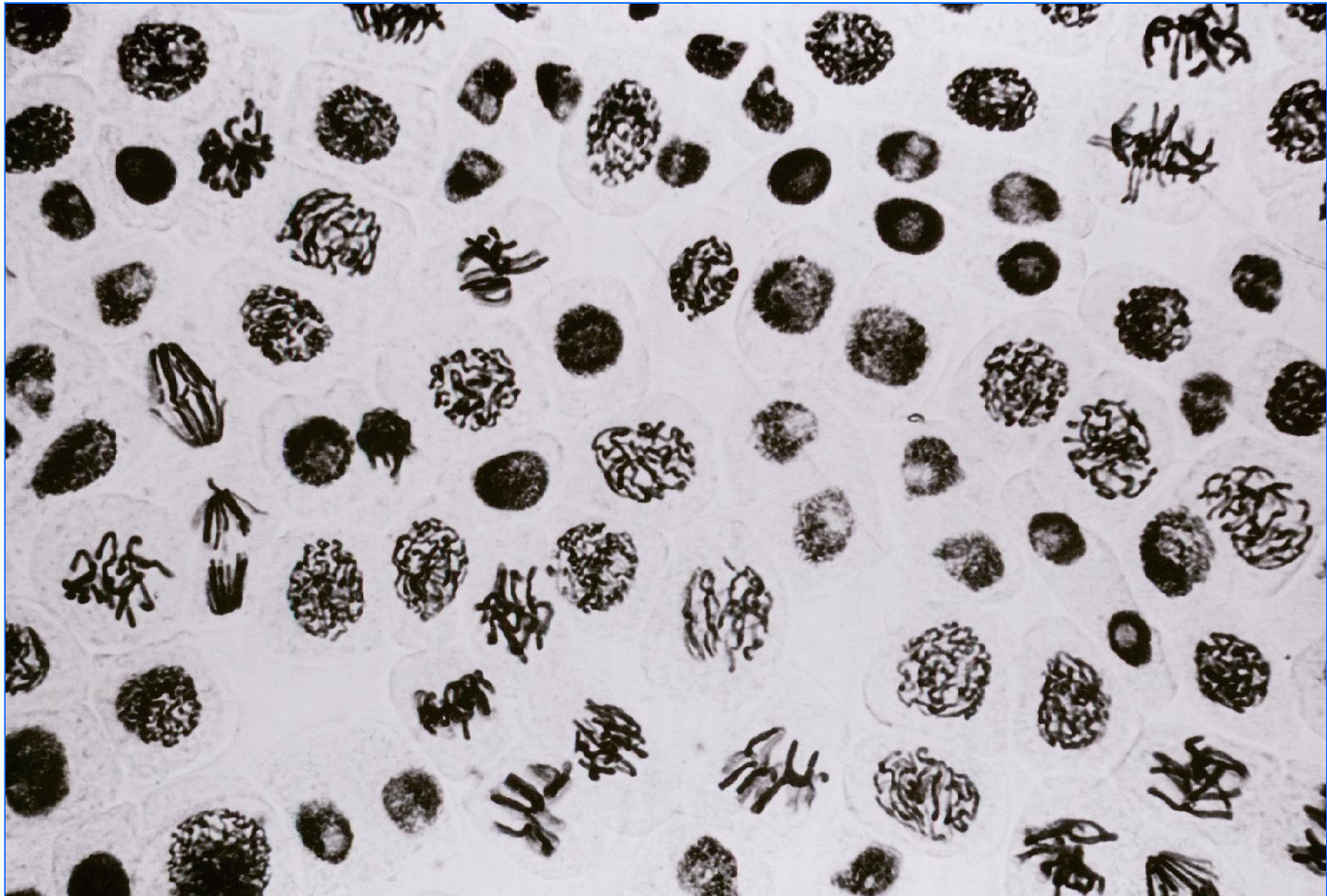
vlastní meristém

klidové centrum (QC)

kořenová čepička

kolumela = sloupek,
střední část
kořenové čepičky

Buňky apikálního meristému kořene hrachu setého (*Pisum sativum*)



Barviva pro barvení v rychlých cytologických metodách

- přírodní

karmín - červec nopálový (**acetokarmín**)

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

hematoxylin - dřevo kampešky (*Haematoxylon campechianum*)

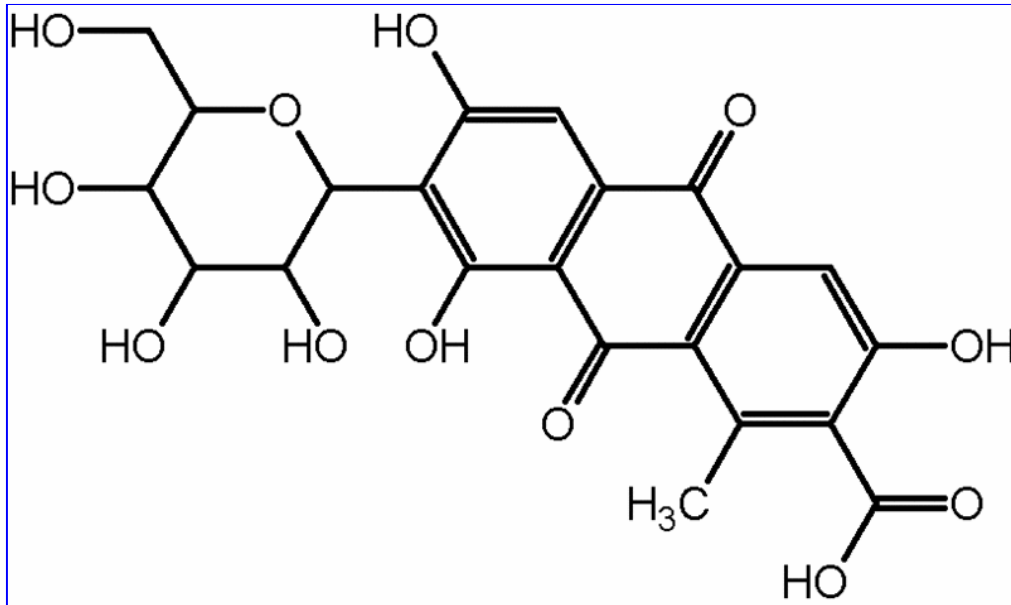
syntetická

nigrosin

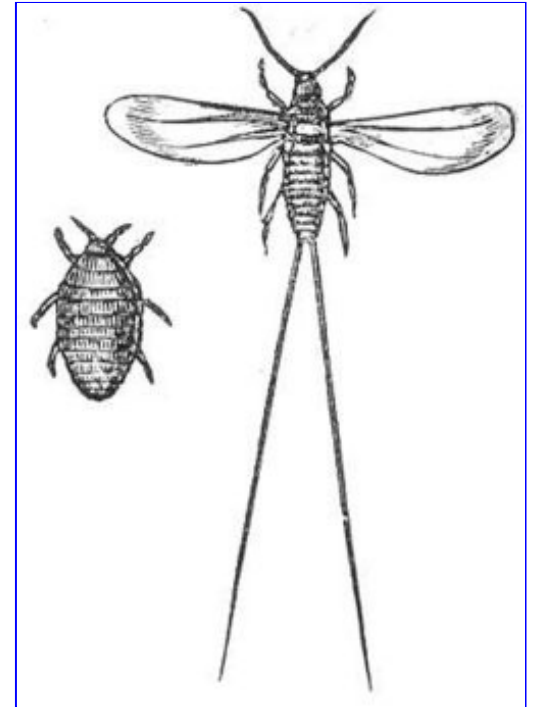
krystalviolet'

Feulgenova nukleární reakce (s leukobazickým fuchsinem)

Karmin



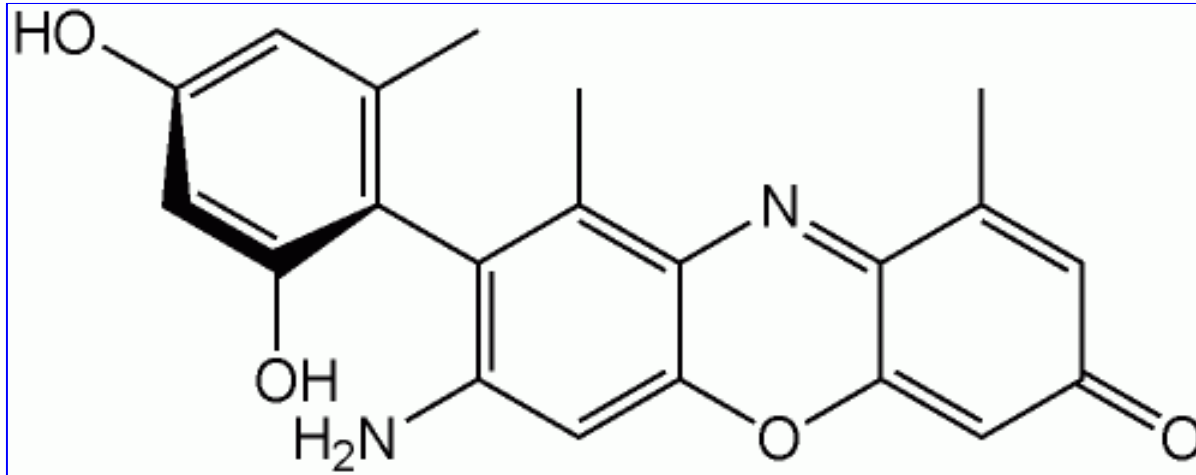
kyselina karmínová



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

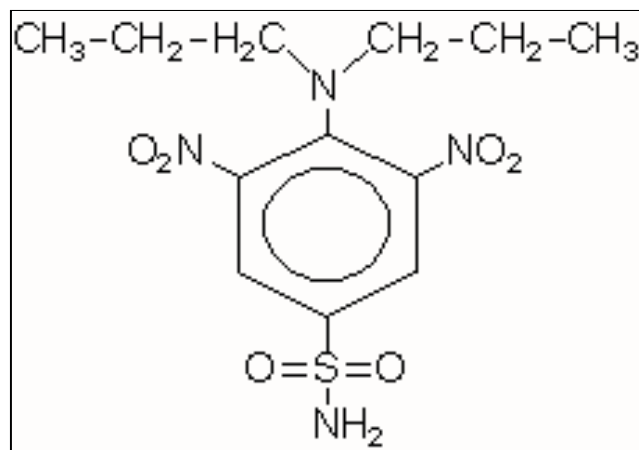
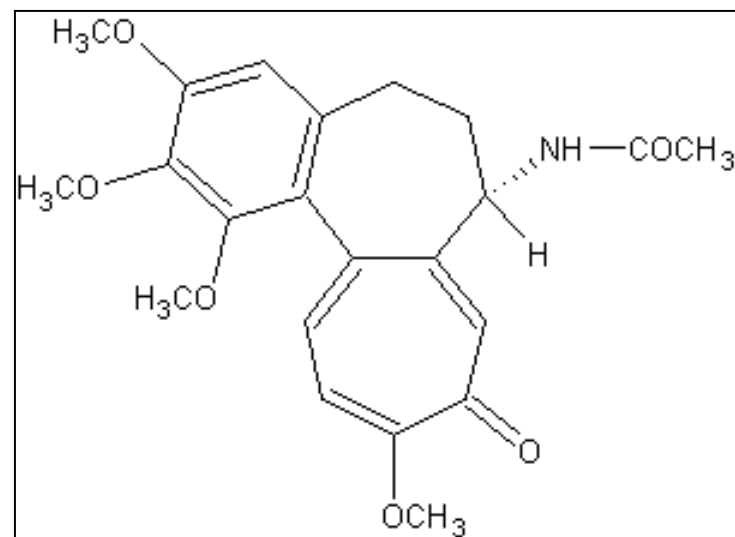
Mitotické jedy

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

Rostlinné alkaloidy a herbicidy

- kolchicin
- vincristin

- oryzalin



Obecný postup

předpůsobení

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

Fixačně-macerační směs

Dostál J. (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: kořeny *Allium cepa* L.

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

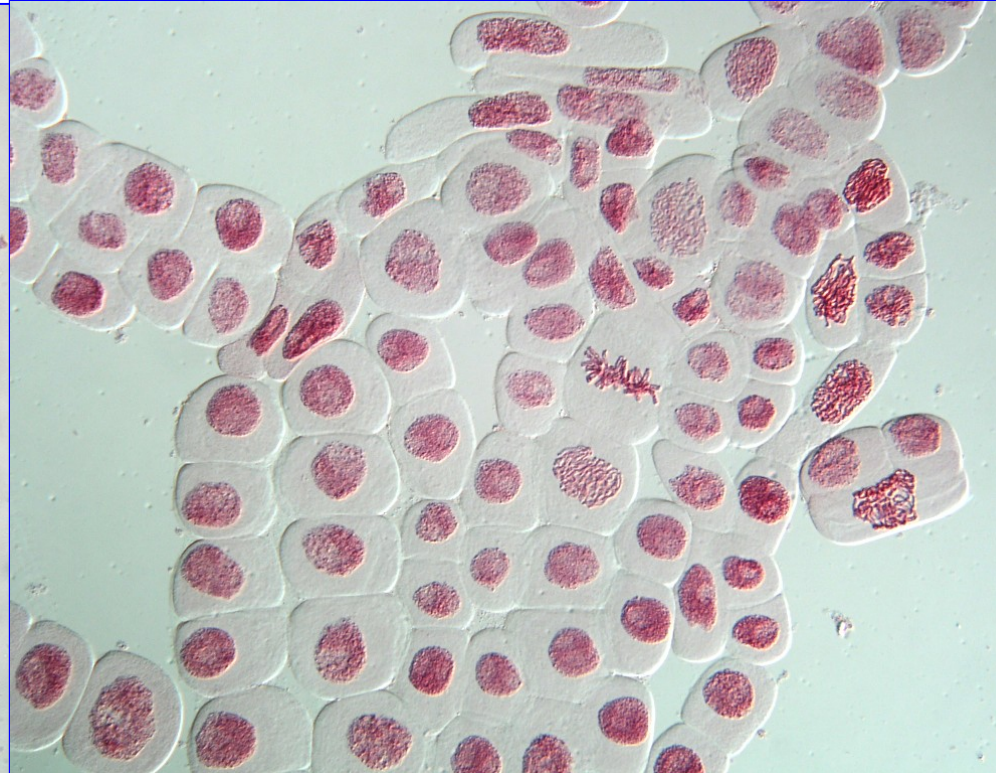
- inkubace kořenů v 0,02 M roztoku hydroxychinolinu
- odběr naklíčených kořenů
- fixace a macerace v činidle
- izolace kořenové špičky
- barvení laktopropionovým orceinem
- rámování lakem na nehty

Laktopropionový orcein

roztakový preparát *Allium cepa*



Olympus BX-51
procházející světlo



Olympus BX-51
DIC