

Rychlá cytologická metoda

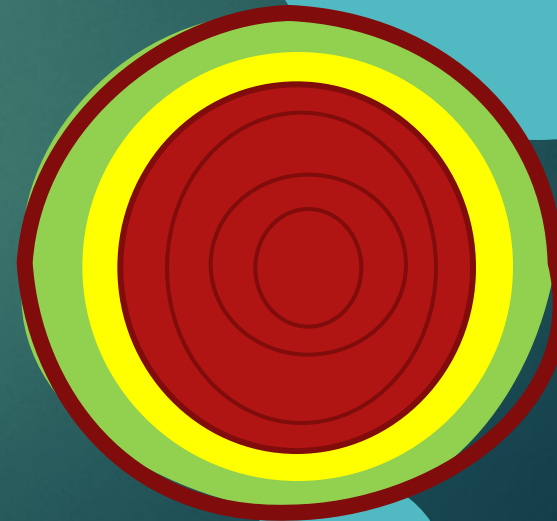
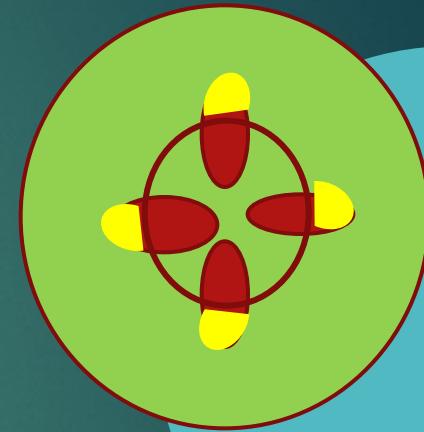
ROZTLAKOVÉ PREPARÁTY

MATERIÁL: KOŘENOVÉ ŠPIČKY ROSTLIN

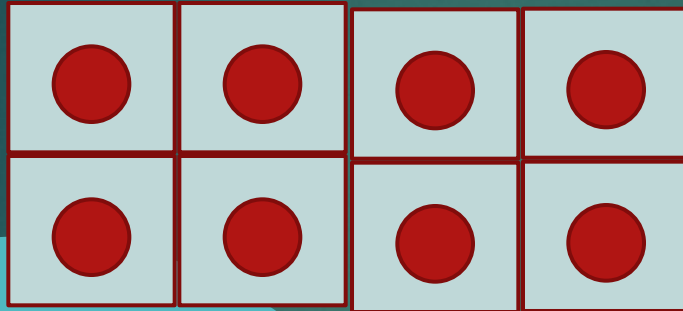
Cíle

- ▶ připravit roztakový preparát kořínku cibule
- ▶ obarvit preparát jaderným barvivem
- ▶ posoudit kvalitu připraveného preparátu z hlediska usnadnění/ztížení pozorování fází mitózy
- ▶ rozeznat v preparátu jednotlivé fáze mitózy

Primární a sekundární meristémy



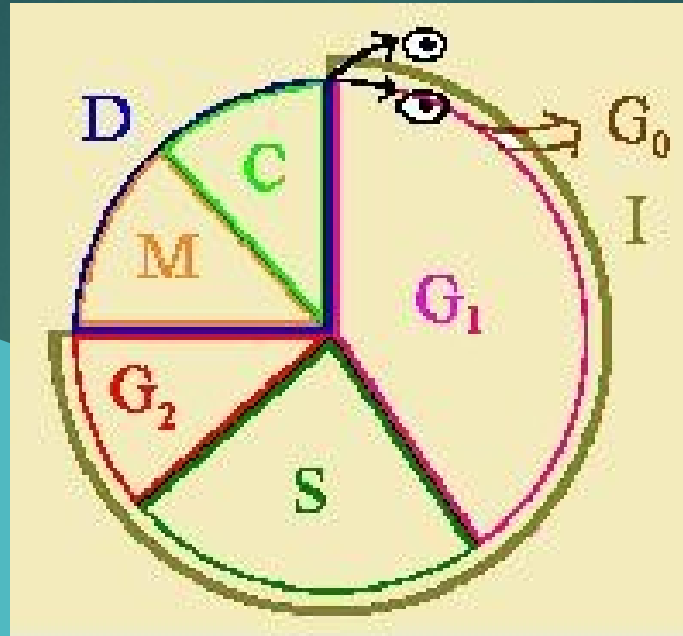
Charakteristika meristematických buněk



- ▶ malé, izodiametrální buňky
- ▶ tenká buněčná stěna
- ▶ velké jádro (jádro-plasmový 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. G₁, S a G₂ fáze

G₀ fáze: buňka se nedělí, je součástí pletiva

G₁ fáze (z ang. gap = mezera): na buňce není pozorovatelné co se v ní děje, probíhá syntéza RNA a bílkovin

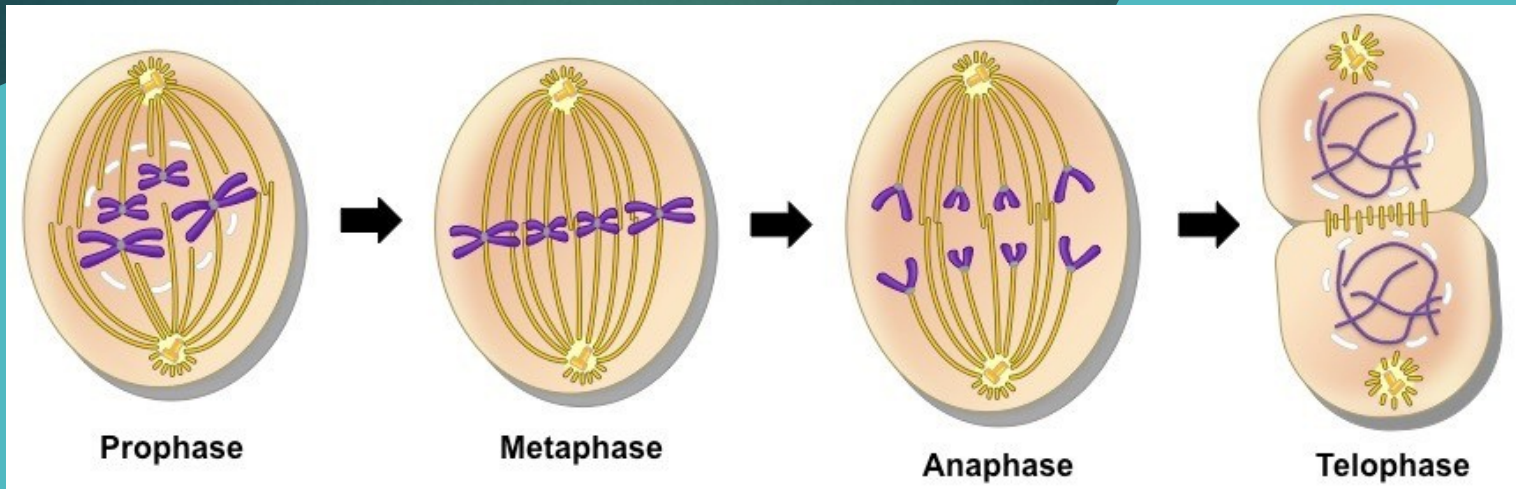
S (syntetická) fáze: syntéza DNA

G₂ fáze: syntéza bílkovin pro vznik a dělení jádra (histony a mikrotubuly)

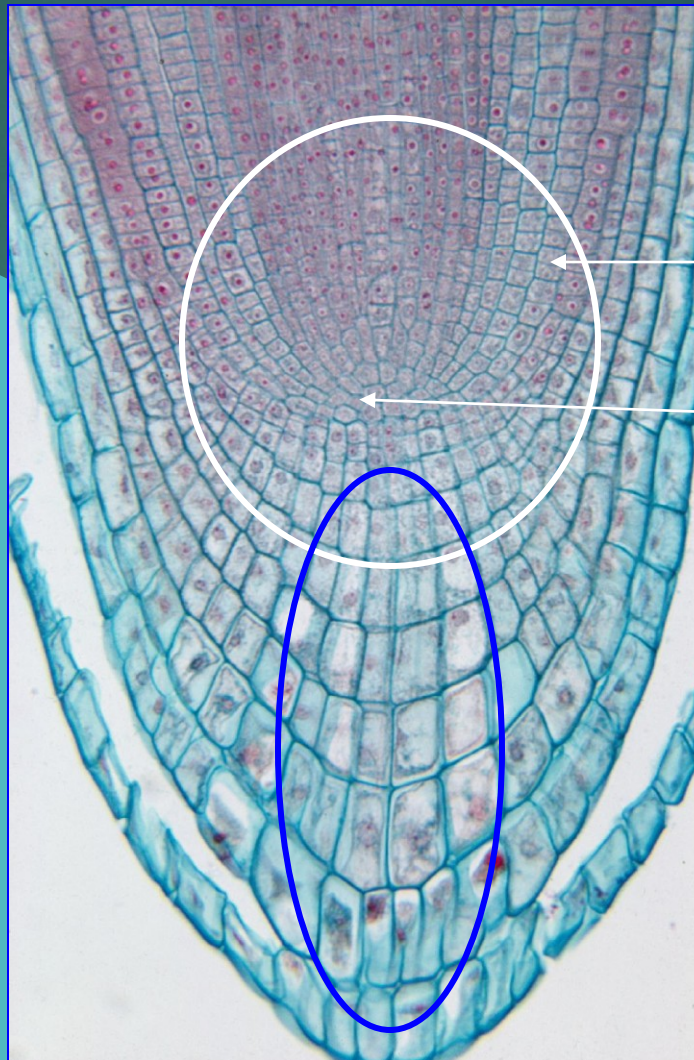
M fáze (mitóza): nepřímé dělení jádra

C fáze (cytokineze): dělení celé buňky

Mitóza



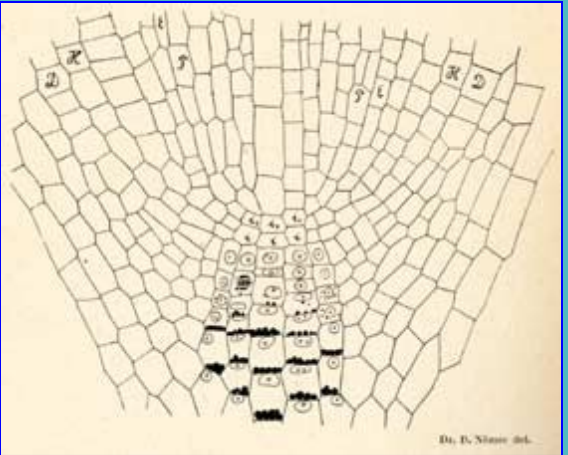
Kořenový apikální meristém *Linum*



vlastní meristém

klidové centrum

kořenová čepička



kolumela = střední sloupek kořenové čepičky

Barviva - zvýšení kontrastu

▶ přírodní

karmín - červec nopálový

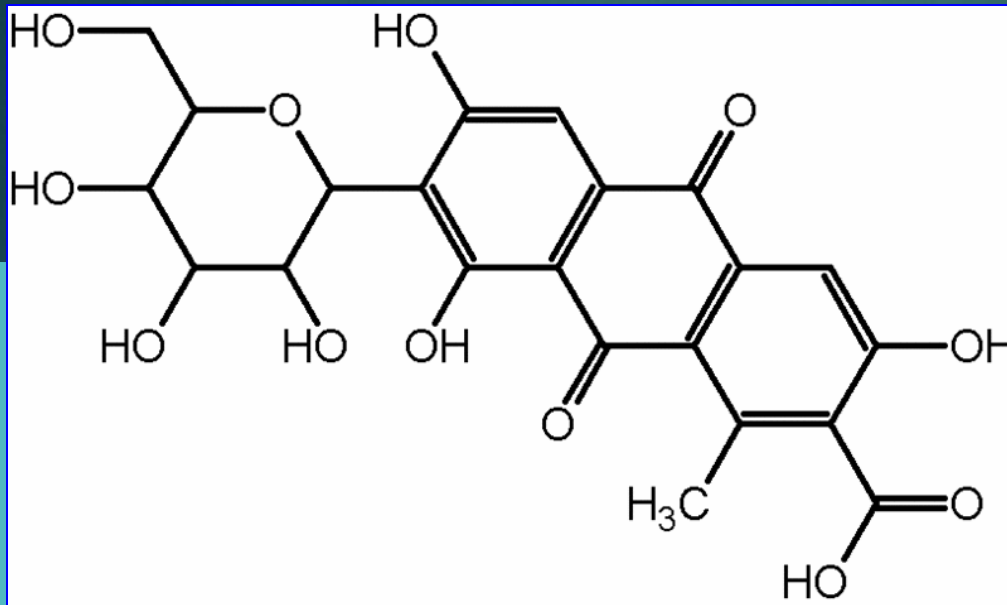
orcein - lišejníky (*Lecanora*, *Rocella*)

hematoxylin - dřevo kampešky (*Haematoxylon campechianum*)

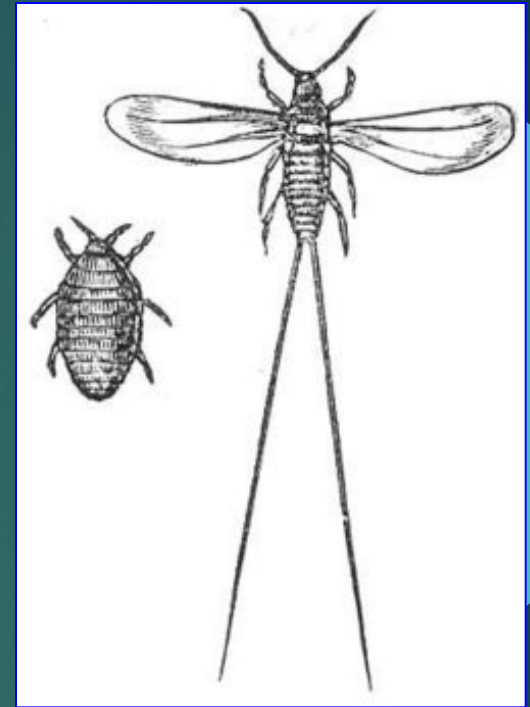
brasilin - dřevo druhů rodu *Caesalpinia* (*Caesalpinia sappan*, *C. brasiliensis*)

▶ syntetická

Karmín



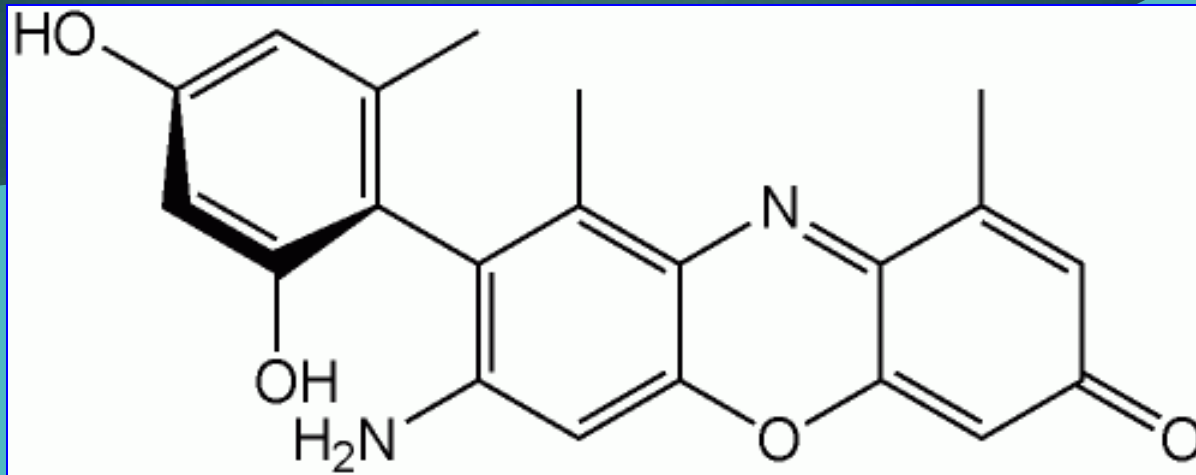
kyselina karmínová



Dactylopius coccus

Cochineal, Natural Red 4, C.I. 75470

Orcein

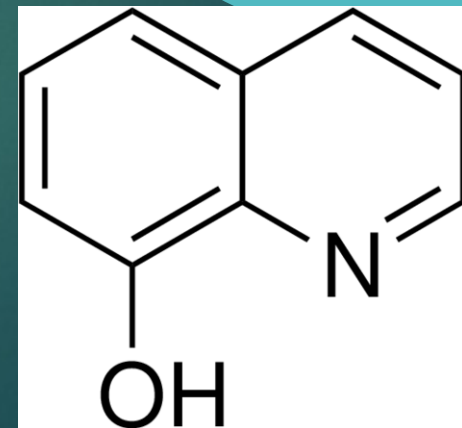


archil, orchil, lacmus, litmus a C.I. Natural Red 28, (E121)

červené v kyselém pH, modré v alkalickém pH

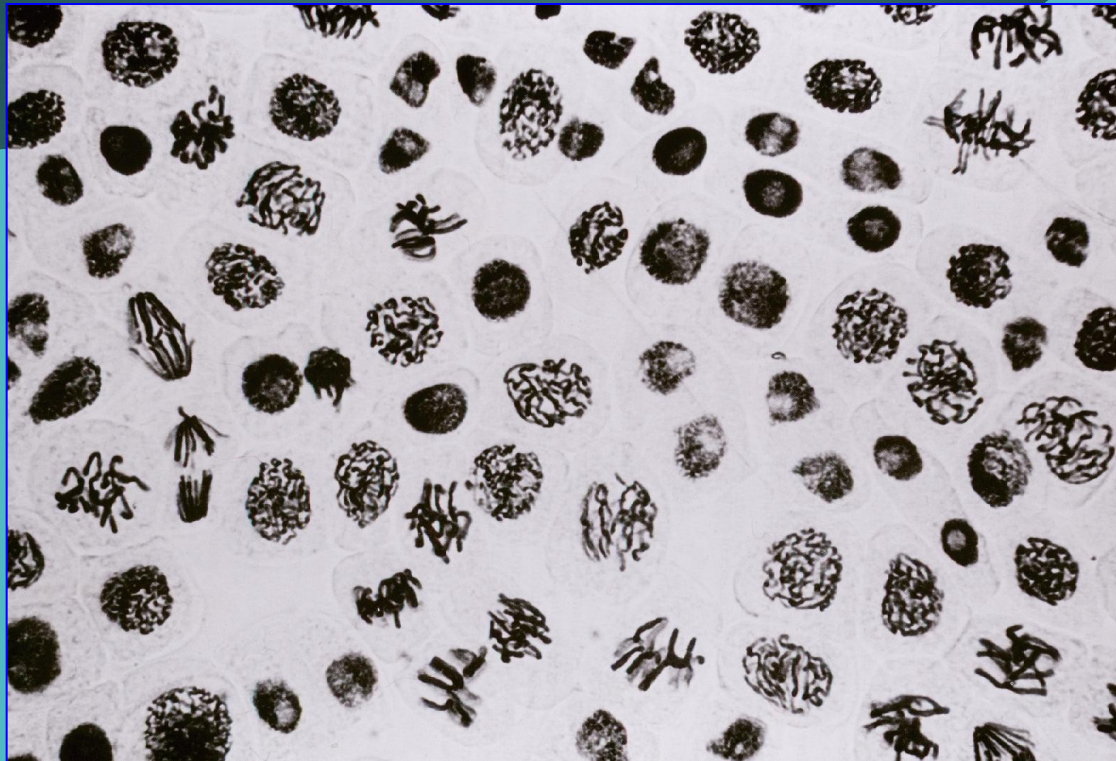
Mitotické jedy

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



Buňky meristému kořene hrachu

Pisum



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

Obecný postup roztlakové metody

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

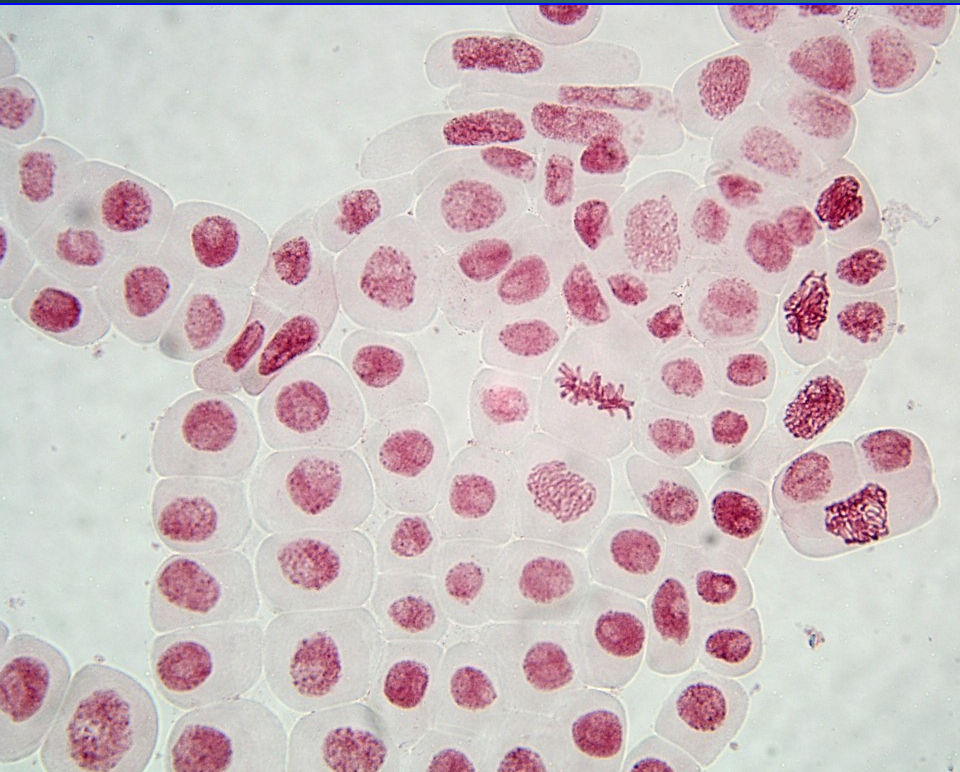
- odběr naklíčených kořenů
- fixace a macerace v činidle
- izolace kořenové špičky
- barvení laktopropionovým orceinem
- rámování lakem na nehty

předpůsobení v hydroxychinolinu - narušení cytoskeletu

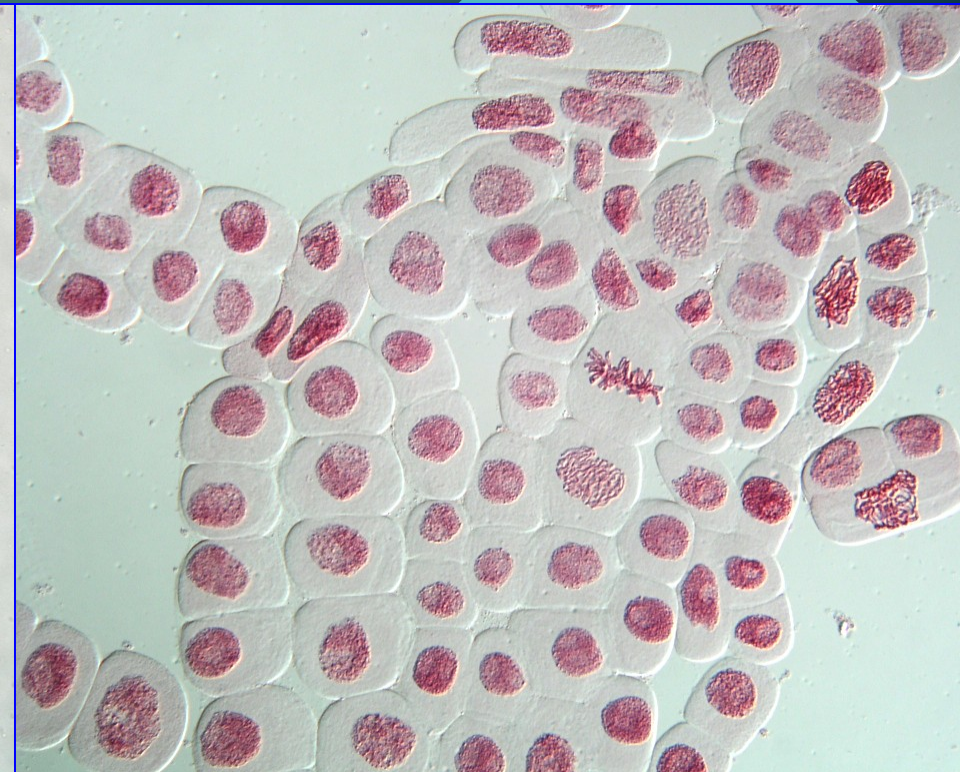
- inkubace kořenů v 0,02 M roztoku hydroxychinolinu
- odběr naklíčených kořenů
- fixace a macerace v činidle
- izolace kořenové špičky
- barvení laktopropionovým orceinem
- rámování lakem na nehty

Laktopropionový orcein

roztakový preparát *Allium cepa*



Olympus BX-51
procházející světlo



Olympus BX-51
DIC