

# 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

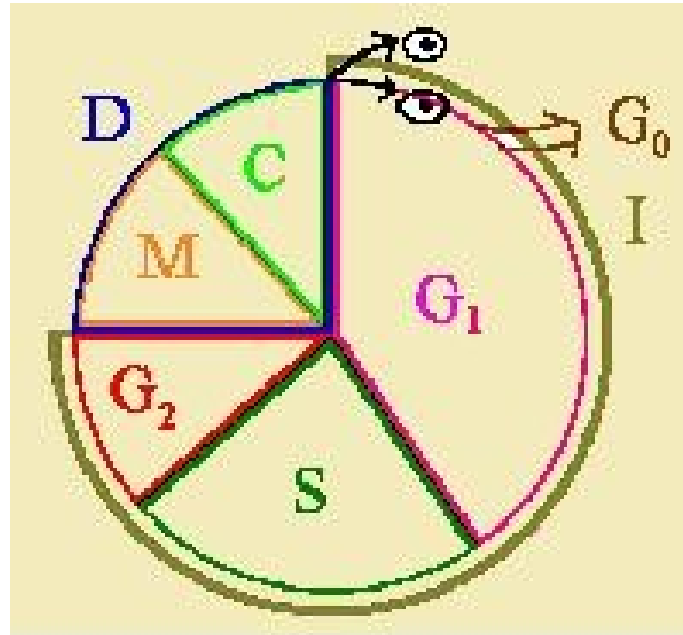
# Charakteristika meristematických buněk

- 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](http://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

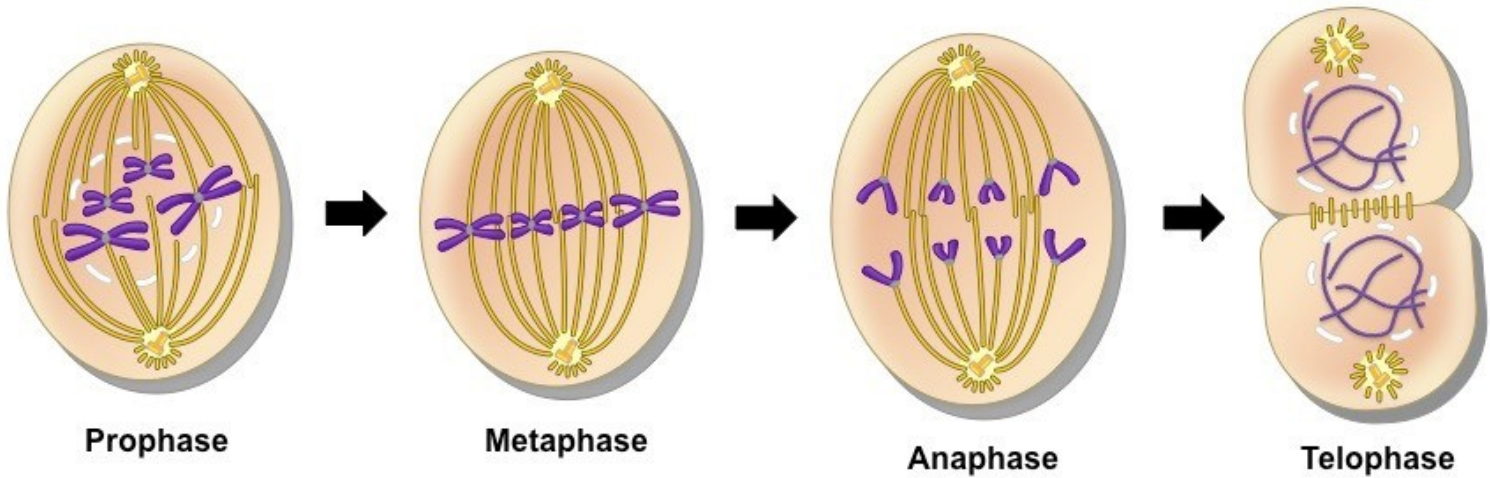
**S (syntetická) fáze:** syntéza DNA

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

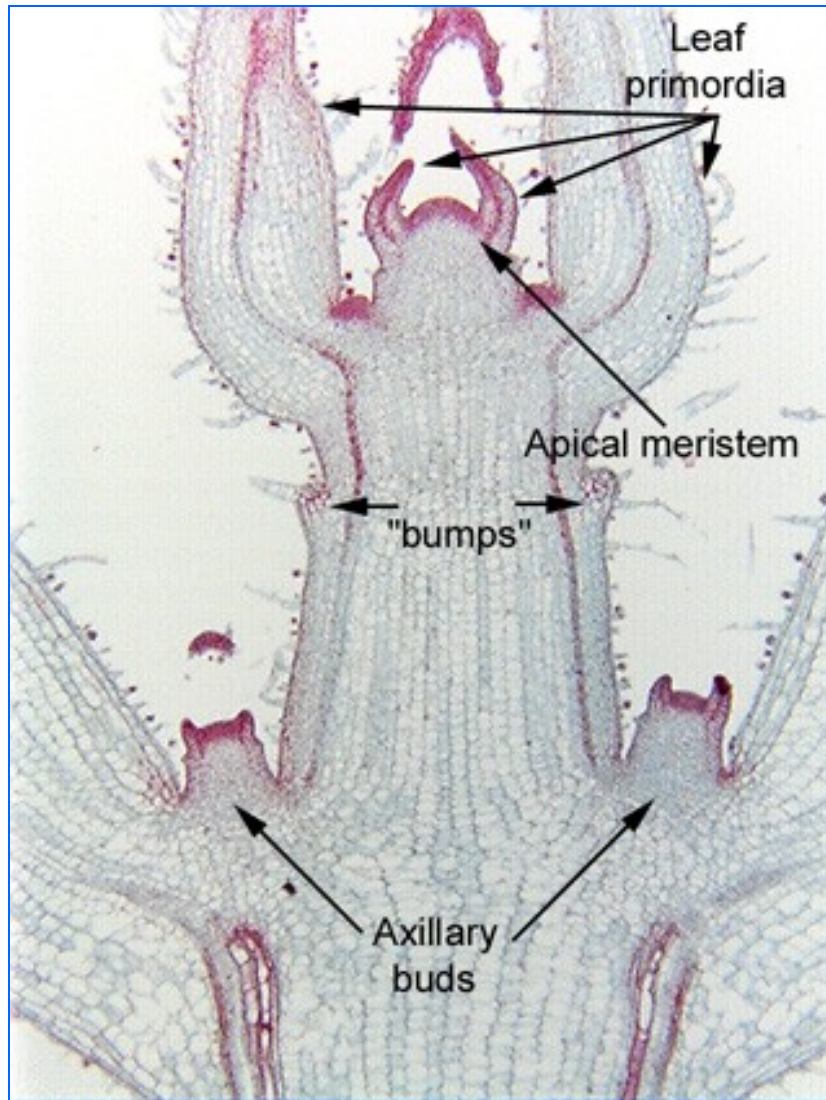
**M fáze (mitóza):** nepřímé dělení jádra

**C fáze (cytokineze):** dělení celé buňky

# Mitóza



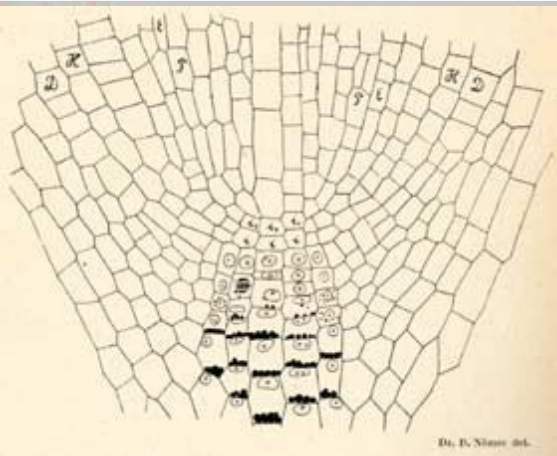
# Podélný řez apexem stonku *Coleus*



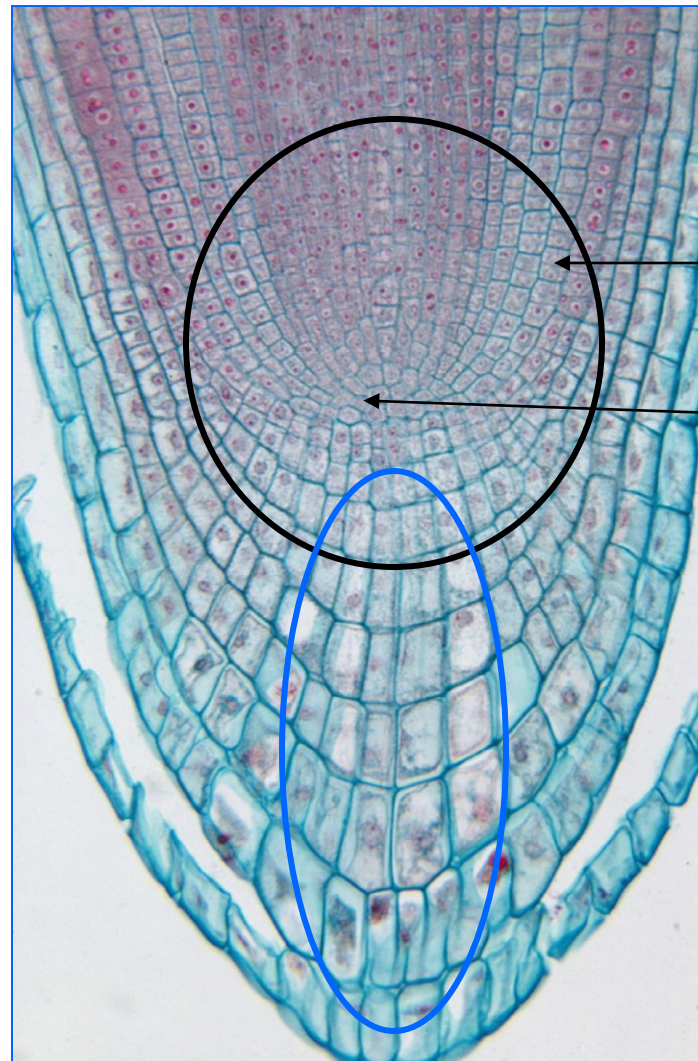
příklad stavby a lokalizace apikálního meristému prýtu a axilárního meristému



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



kolumela = sloupek,  
střední část  
kořenné čepičky

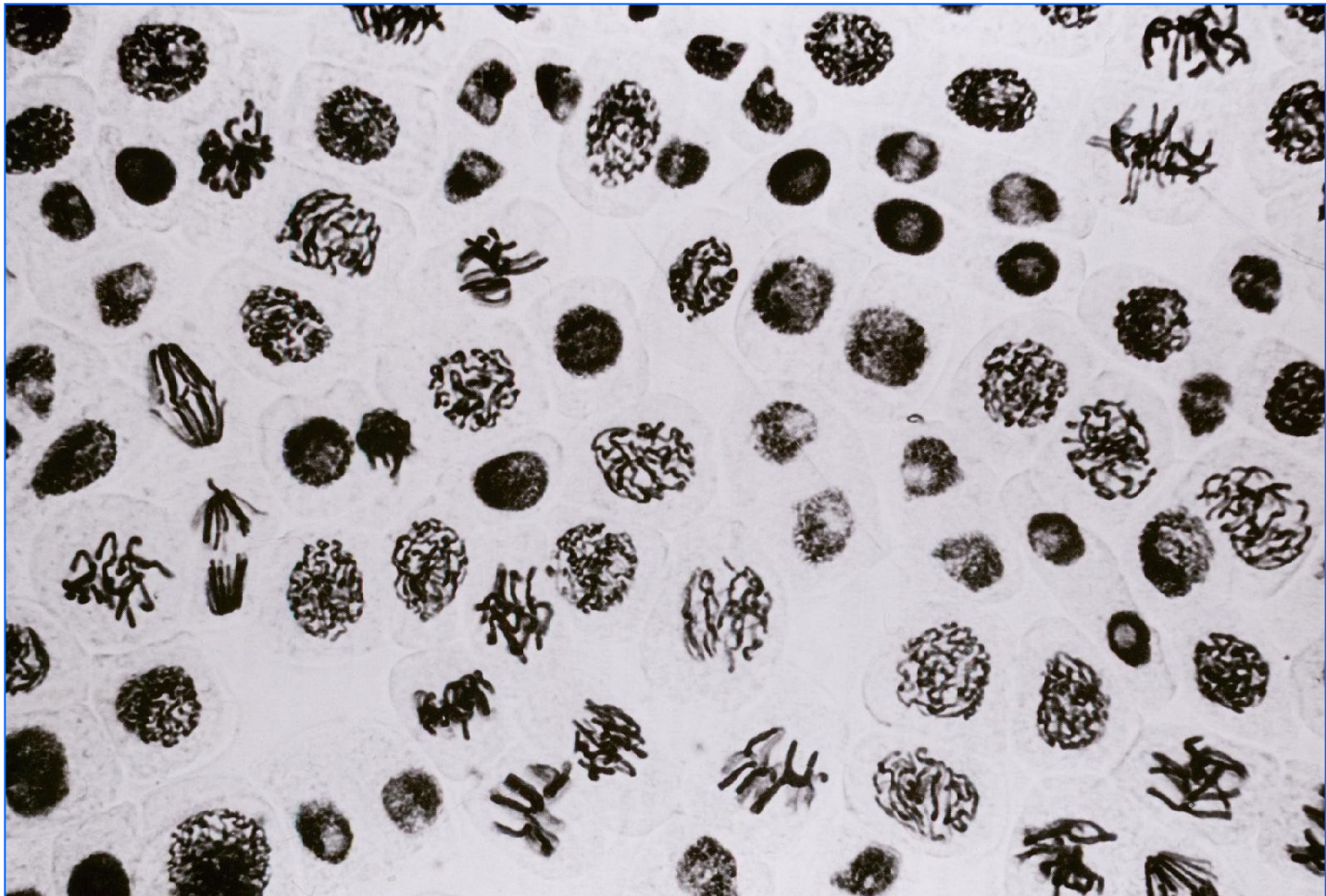


vlastní meristém

klidové centrum (QC)

kořenná čepička

# 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*)

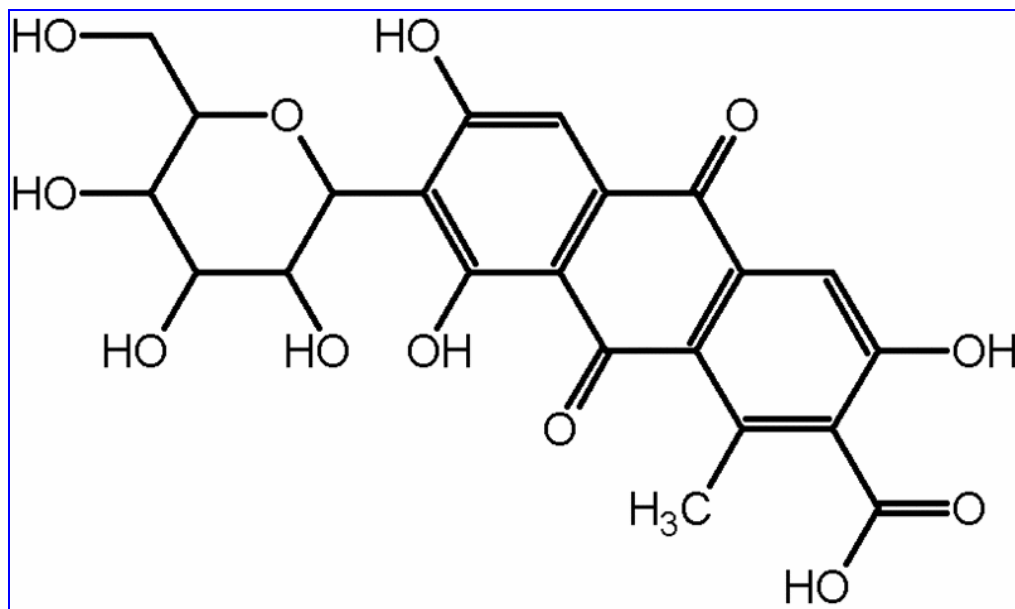
## syntetická

**nigrosin**

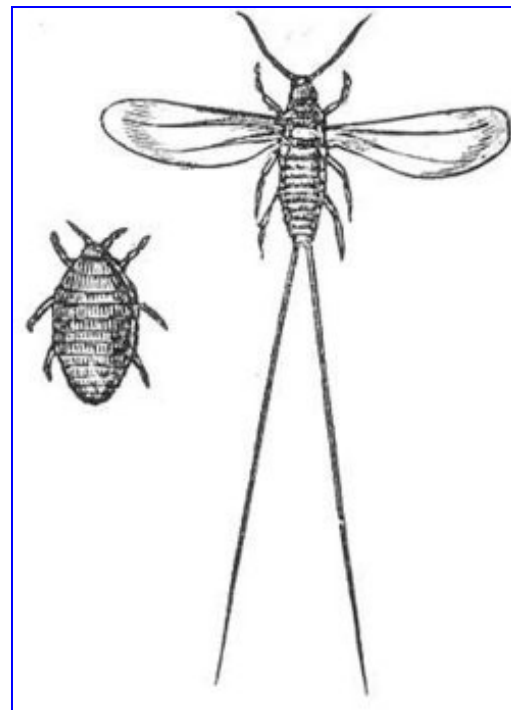
**krystalviolet'**

Feulgenova nukleární reakce (**s leukobazickým fuchsinem**)

# Karmin



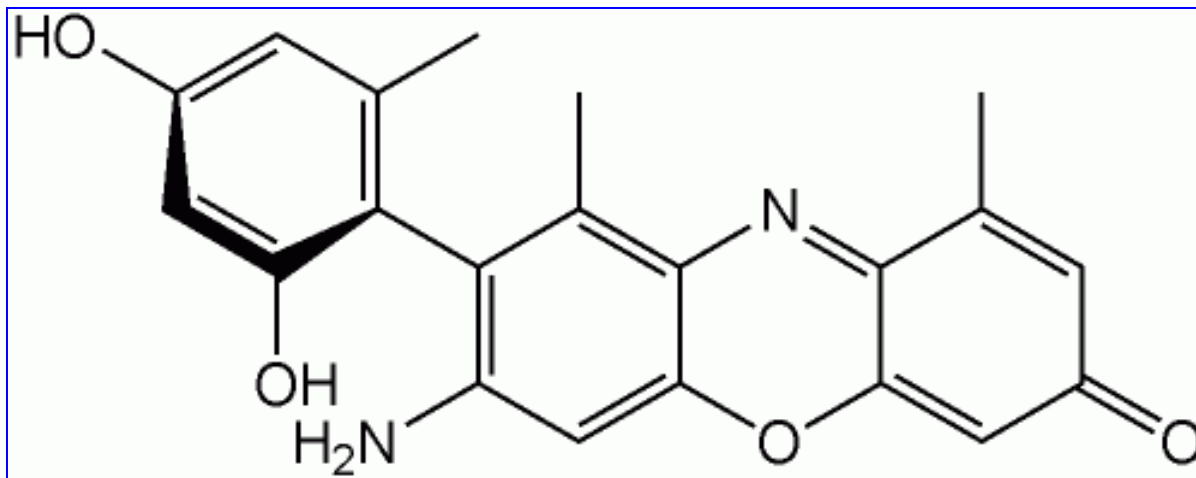
kyselina karmínová



*Dactylopius coccus*

Cochineal, Natural Red 4, C.I. 75470

# Orcein



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

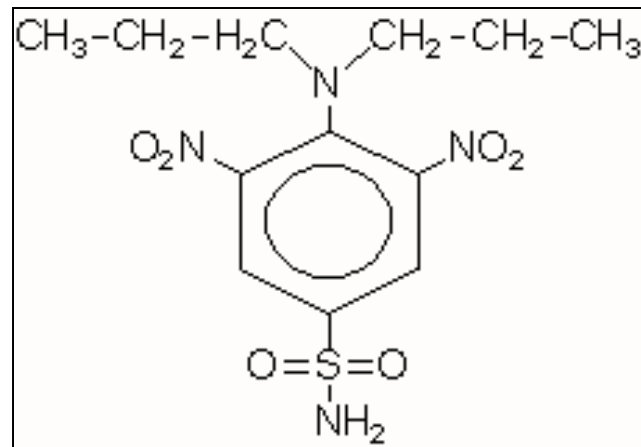
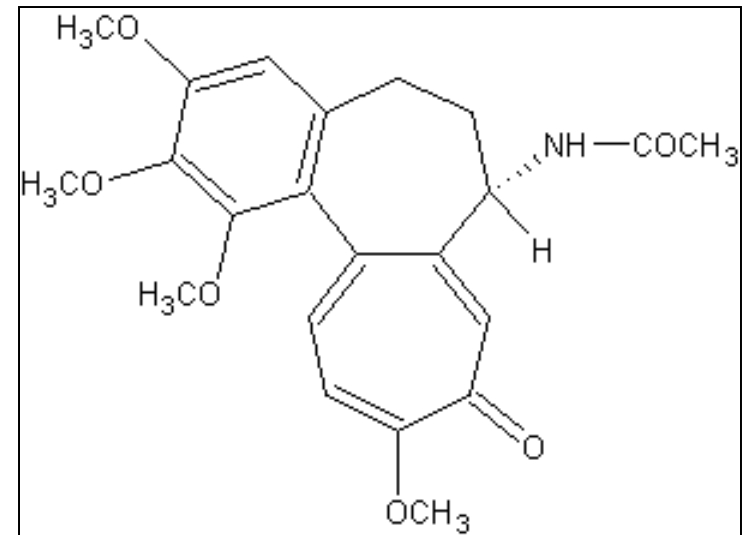
červené v kyselém pH, modré v alkalickém pH

# Mitotické jedy

- halogenové deriváty aromatických uhlovodíků (p-dichlór benzén,  $\alpha$ -bróm naftalén, 8-hydroxychinolin)
- alkaloidy (kolchicin, vincristin)
- herbicidy (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

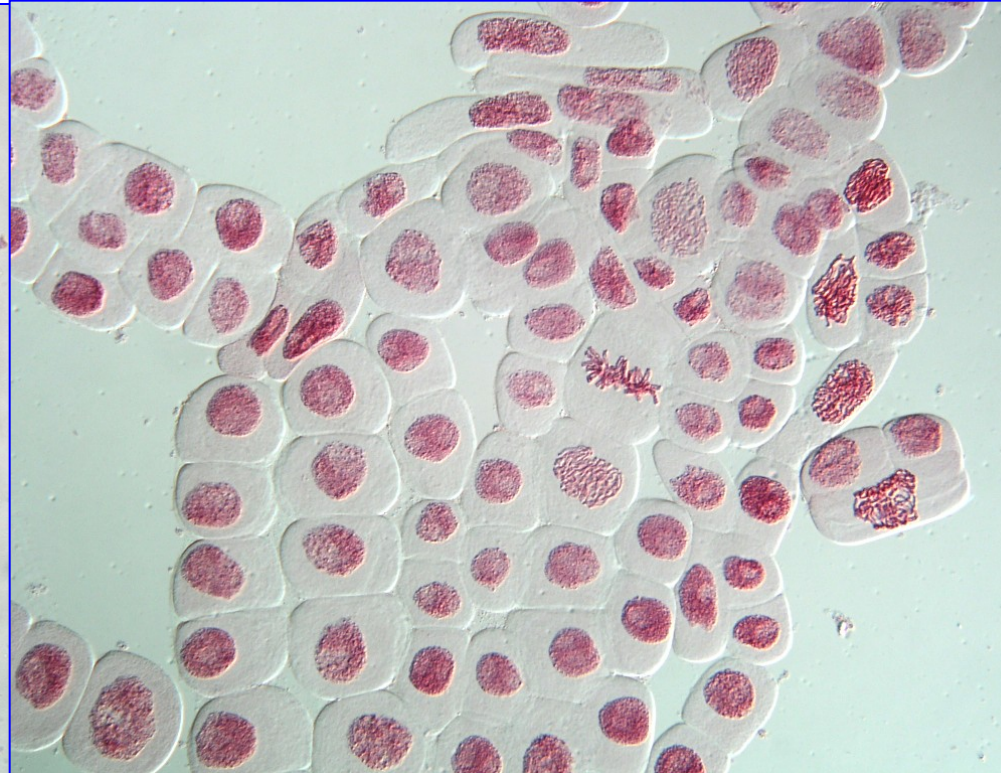
- inkubace kořenů v 0,02 M roztoku hydroxychinolinu
- odběr naklíčených kořenů
- fixace a macerace v činidle
- izolace kořenové špičky
- barvení laktopropionovým orceinem
- rámování lakem na nehty

# Laktopropionový orcein

roztakový preparát *Allium cepa*



Olympus BX-51  
procházející světlo



Olympus BX-51  
DIC