



## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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

### **Téma: 09: Pozorování vývoje embrya kokošky pastuší tobolky v projasněných semenech a na řezových preparátech**

Pro rychlou informaci o vývojovém stadiu rostlinného embrya se v některých případech v rostlinné embryologii používá metoda projasňování semen pomocí projasňovacího média, které zprůhlední obsah buněk a je pak možné při zaostření na určitou rovinu prohlédnout buňky tzv. **optického řezu**. Materiál pak není nutno krájet.

Detailnější studie struktury embrya vyžadují použití histologických technik zalévání semen do parafínu nebo pryskyřice

#### **A. Metoda projasňování semen**

**Materiál:** plody kokošky pastuší tobolky (*Capsella bursa-pastoris* L.) nafixované v Carnoyově fixáži (ethylalkohol : ledová kyselina octová 3 :1), projasňovací médium: nasycený roztok chloralhydrátu (8 dílů chloralhydrátu a 3 díly destilované vody) nebo nasycený roztok chloralhydrátu v kyselině mléčné

#### **Postup:**

1. Rostlinný materiál fixujeme ve fixační směsi.
2. Fixované objekty propereme v etanolu (jeho koncentrace odpovídá koncentraci etanolu ve fixační směsi). V 70% etanolu je možné nafixovaný materiál i uchovávat po delší dobu. Pokud chceme sledovat ukládání chlorofylu v buňkách embrya, fixaci vynecháme.
3. Na podložním skle vypreparujeme z šesulek různé velikosti mladá semena, zakápneme několika kapkami projasňovacího média a asi po hodině můžeme pozorovat obsah zárodečného vaku.

#### **Výsledky:**

Vyhledáme vhodnou optickou rovinu a schematicky zakreslíme tvar mladého embrya a jeho uložení v semeni. Snažíme se najít různé vývojové fáze embrya. Provedeme fotodokumentaci.

#### **B. Trvalé preparáty**

Plody kokošky pastuší tobolky (*Capsella bursa-pastoris* L.) nafixované ve fixační směsi FAA (35% formaldehyd + ledová kys. octová + 70% ethylalkohol smícháno v poměru 5 + 5 + 90 dílů) byly odvodněny, převedeny do parafínu. Řezy připravené na sáňkovém mikrotomu byly po odparafinování obarveny podvojným barvením alcianovou modří a pravou jadernou červení (Beneš a Kamínek 1973)

## Literatura:

1. Beneš, K., Kamínek, M. (1973): *The use of aluminium lake of nuclear fast red in plant material successively with alcian blue*. *Biologia Plantarum*, 15 (4): 294 – 297.
2. Braune W., Leman, A., Taubert H. *Pflanzenanatomisches Praktikum II*. 2. vyd. Jena: VEB Gustav Fischer Verlag, 1982. 426 s. ISBN 261 700-36-82.
3. Gardner RO. (1975): *An overview of botanical clearing technique*. - *Stain Technol.* 50(2):99-105.
4. Herr J. M., Jr (1971): *A new clearing-squash technique for the study of ovule development in angiosperms*. – *Amer. J. Bot.* 58: 785–790.
5. Lux A., Erdelská O. *et al. Praktikum z anatómie a embryológie rastlín*, Univerzita Komenského Bratislava, 1998. 136 s. ISBN 80-223-1229-0.
6. Lux A., Morita S., Abe J. and Ito K. (2005): *An improved method for clearing and staining free-hand sections and whole-mount samples*. – *Ann. Bot.* 96: 989 – 996.
7. Opravilová, V., Knoz, J. *Základy mikroskopické techniky*. Brno: Masarykova univerzita, Vyd. 1. 1992.

Příklad obrazu projasněného semene kokošky s torpédovitým embryem  
Fotografováno v diferenciálním interferenčním kontrastu podle Nomarského

funikulus CS chaláza



mikropyle

bazální buňka  
suspensoru

antipody

suspensor

vlastní embryo

osemení (testa)

endosperm