

# 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**, ve kterých si buňky zachovávají embryogenní charakter a schopnost dělení (**apikální meristém stonkový, kořenový, axilární meristémy**) - jejich činností vznikají nové buňky, které po diferenciaci vytvářejí celé rostlinné tělo
- **sekundární meristémy**
  - kambium a felogén

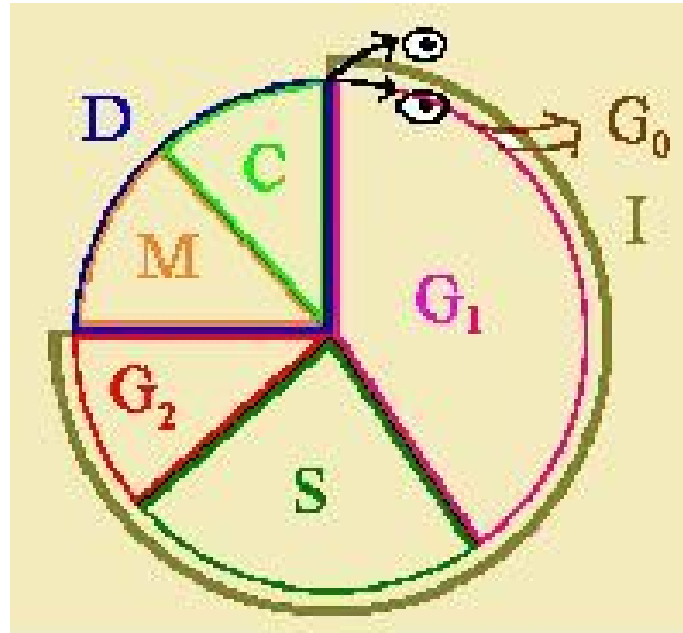
# Charakteristika meristematických buněk

- 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](http://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 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

před profází

metafáze

telofáze

cytokineze

interfáze

diferenciace

A

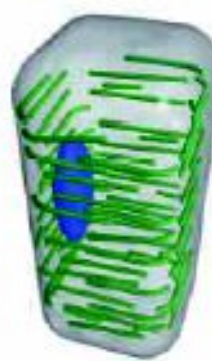
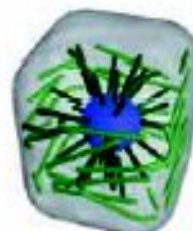
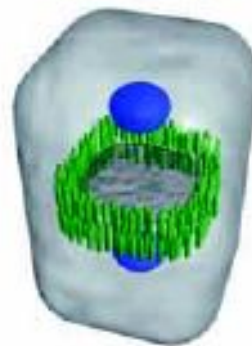
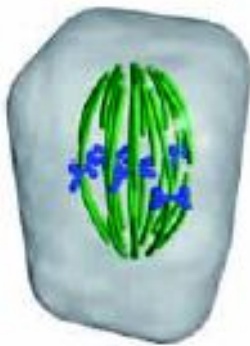
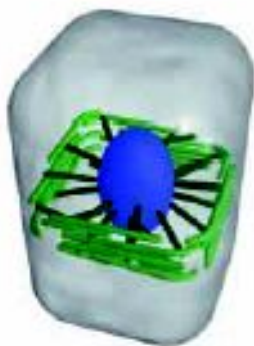
B

C

D

E

F



předprofázní  
prstenec

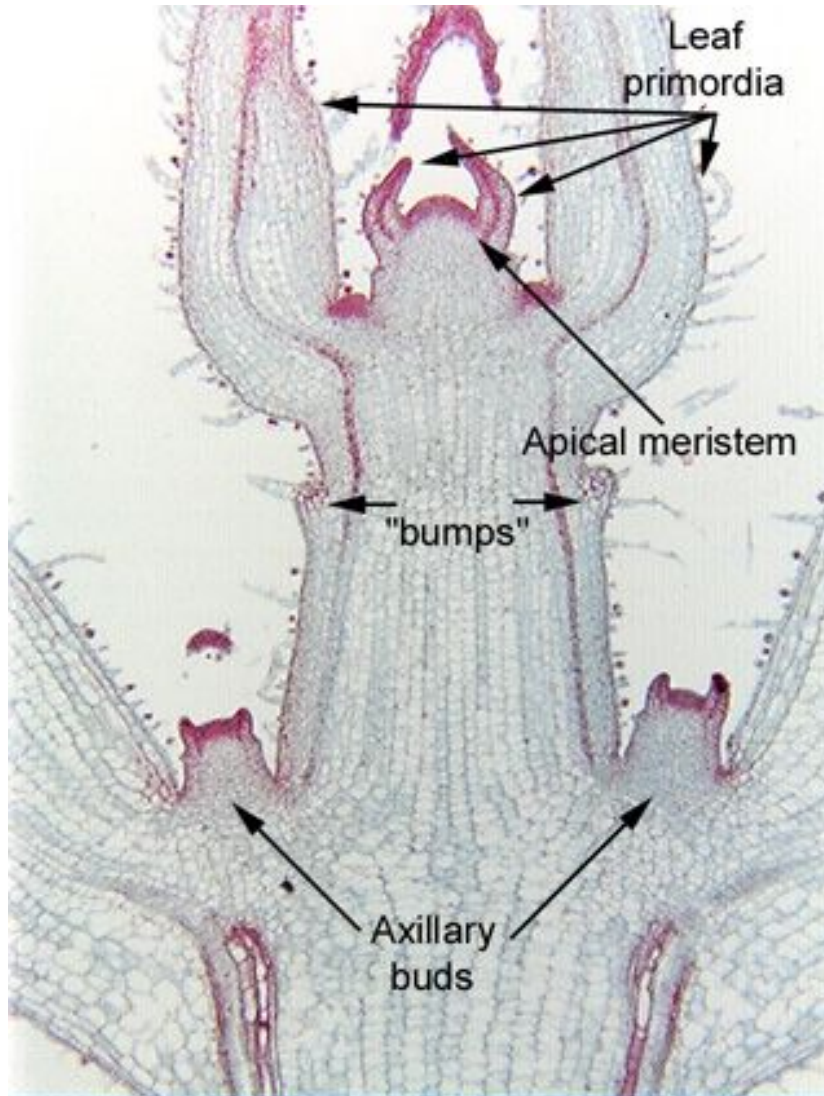
achromatické  
vřeténko

fragmoplast

radiální  
formace

kortikální  
formace

# Podélný řez apexem stonku *Coleus*

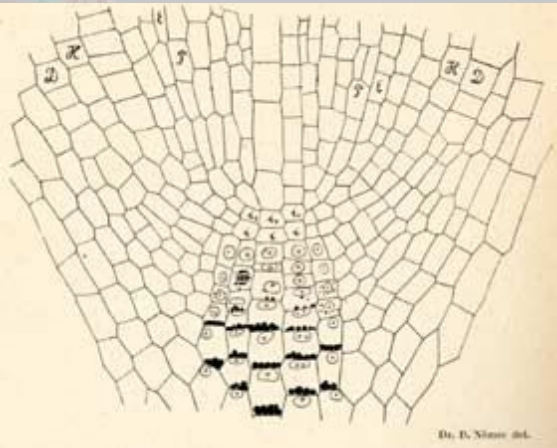
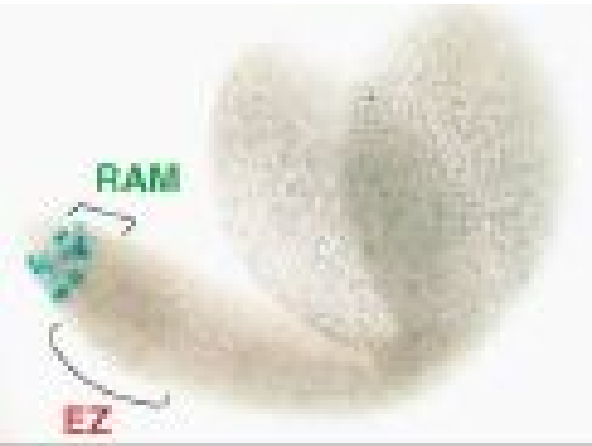


příklad stavby a  
lokalizace stonkového  
apikálního a  
axilárního meristému

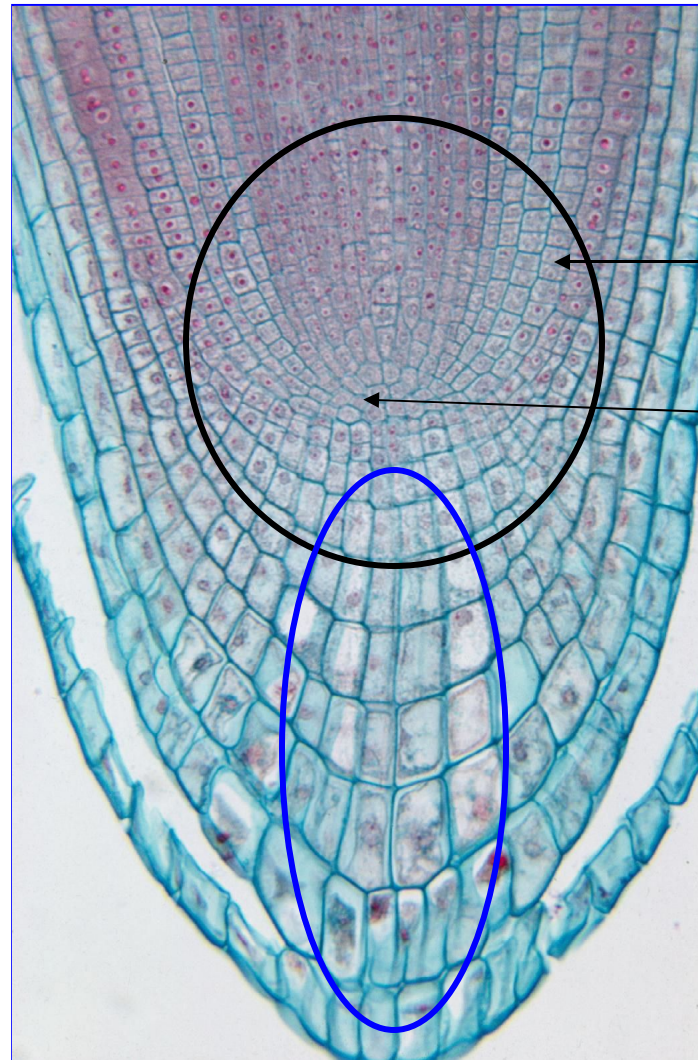
pro pozorování  
jaderného dělení  
lze použít i listová  
primordia



# Kořenový apikální meristém *Linum*



kolumela = střední sloupek kořenné čepičky



vlastní meristém

klidové centrum

kořenová čepička

# Dělení barviv podle původu

- přírodní

**karmín** - červec nopálový

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

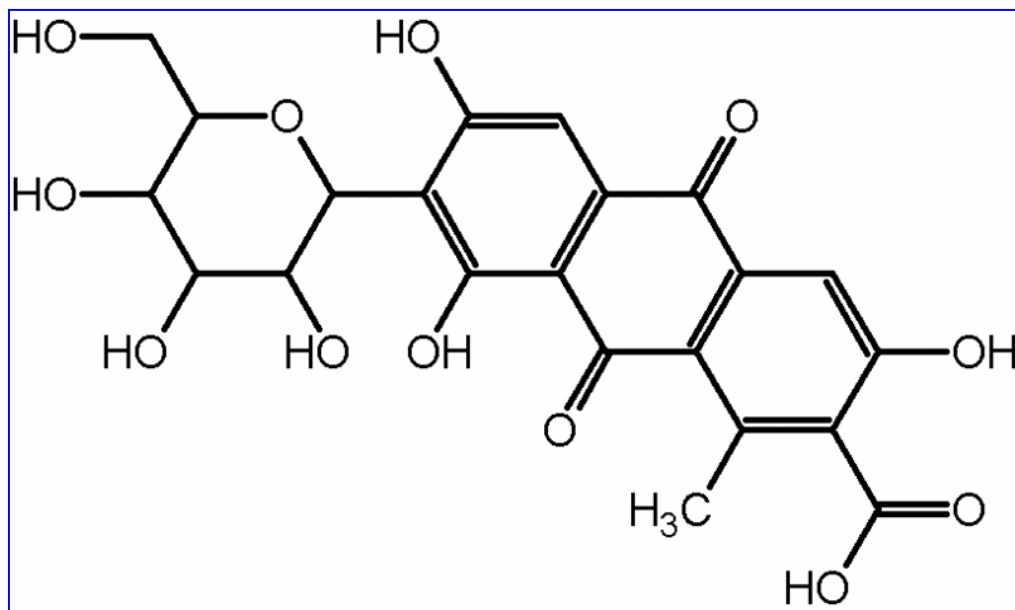
**hematoxylin** - dřevo kampešky (*Haematoxylon campechianum*)

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

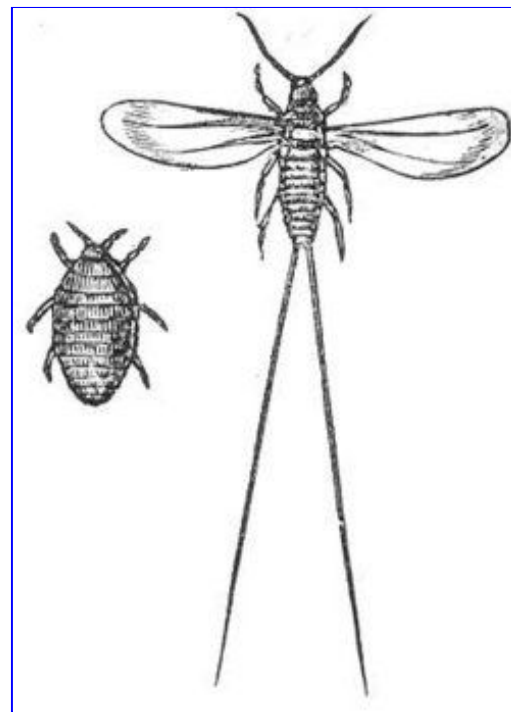
- syntetická



# Karmin



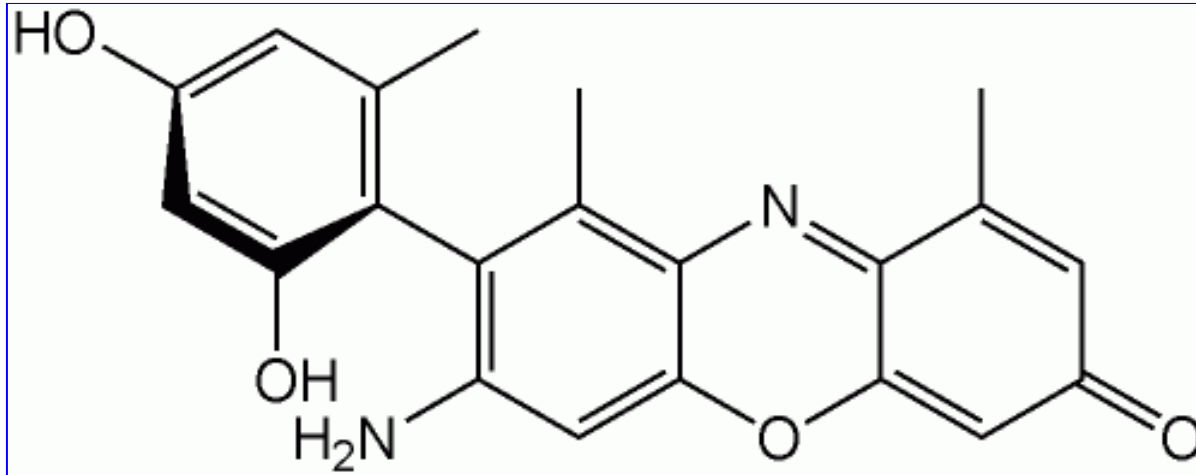
kyselina karmínová



*Dactylopius coccus*

Cochineal, Natural Red 4, C.I. 75470

# Orcein



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

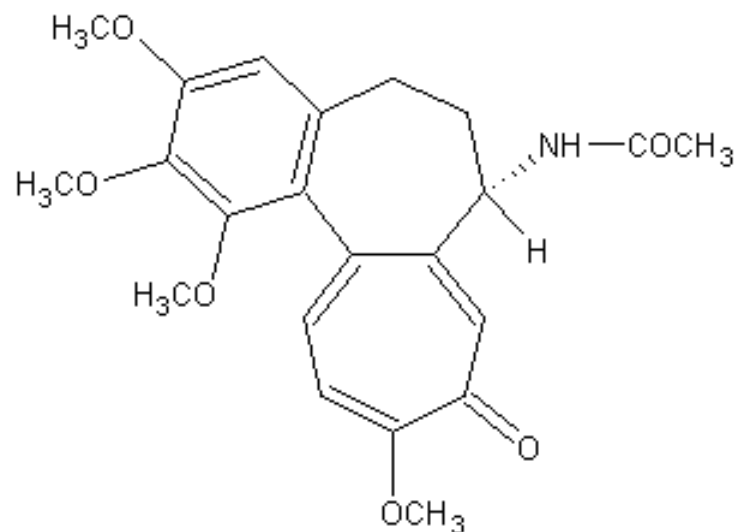
červené v kyselém pH, modré v alkalickém pH

# Mitotické jedy

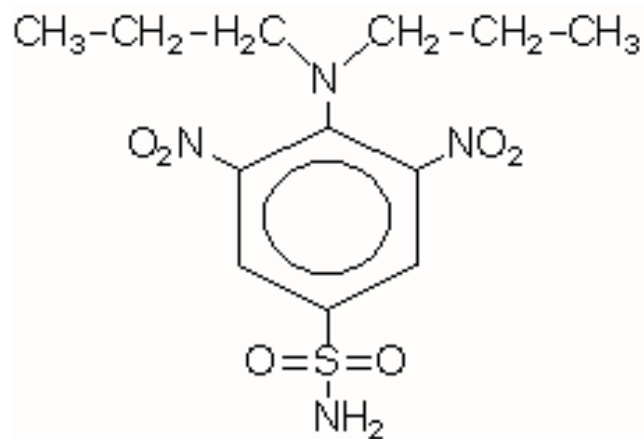
- **halogenové deriváty aromatických uhlovodíků**  
(p-dichlór benzén,  $\alpha$ -bróm naftalén,  
8-hydroxychinolin)
- **alkaloidy** (kolchicin, vincristin)
- **herbicity** (oryzalin)

# Rostlinné alkaloidy a herbicidy

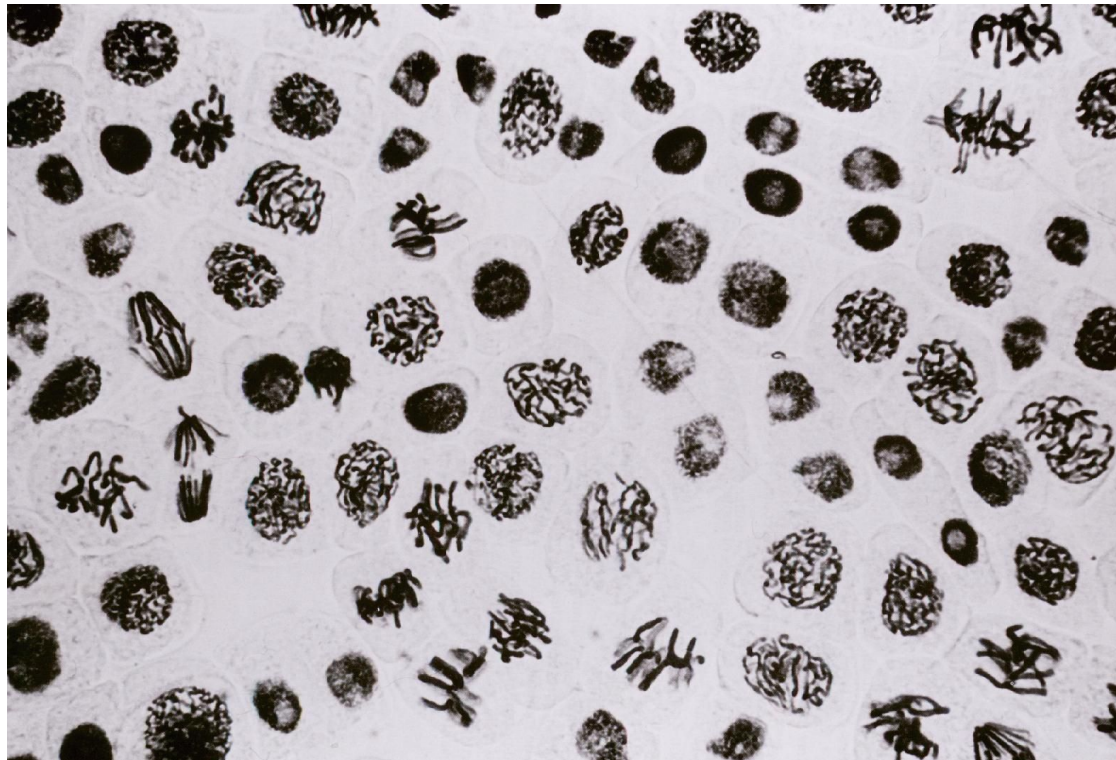
**kolchicin**



**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

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

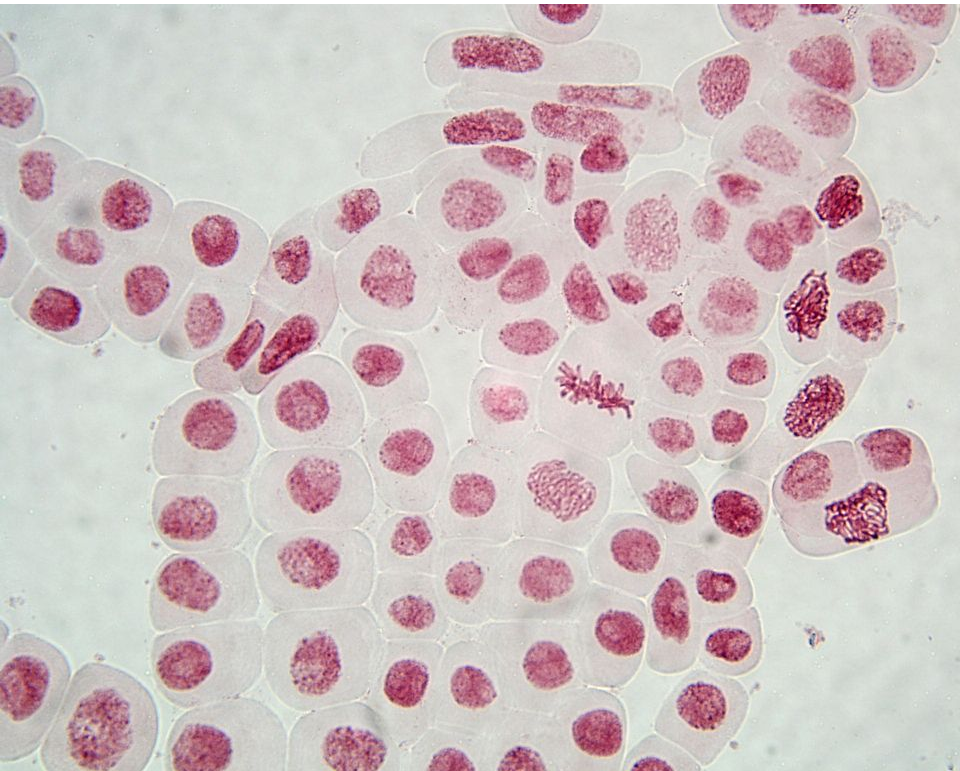
- odběr naklíčených kořenů
- fixace a macerace v činidle
- izolace kořenové špičky
- barvení laktopropionovým orceinem
- rámování lakem na nehty

## 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