



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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

Téma 08: **Pozorování prorůstání pylových láček na roztlakových preparátech čnělek**

Hodnocení růstu pylových láček čnělkou je důležité především při hybridizačních experimentech. Před barvením se čnělky fixují a macerují, aby bylo možné roztlačení jejich pletiv do jedné vrstvy. Intenzita a doba macerace závisí na konzistenci čnělky. Roztlačování provádíme v roztoku barviva selektivně barvícího kalózu v pylových láčkách.

Materiál: pestíky lilie (*Lilium* hybr.)

Vzorky čnělek s bliznami:

1. blizna opylená pylem z květu jiné rostliny (odběr 5 dní po opylení)
2. blizna opylená květem z jiného květu stejné rostliny (odběr 5 dní po opylení)
3. blizna neopylená kontrola
4. blizna opylená pylem stejného květu (odběr 15 hodin po opylení)
5. blizna opylená pylem stejného květu (odběr 15 hodin po opylení)
6. blizna staršího květu – neopylená kontrola
7. blizna staršího květu – neopylená kontrola

ethanol – octová fixáž (96% EtOH : ledová kyselina octová 1:1

60% kyselina mléčná, 1% roztok bavlníkové modři v laktofenolu (fenol, kyselina mléčná, glycerol, voda v poměru 2 : 1 : 2 : 1)

A. Barvení pylových láček v čnělce po maceraci vroucí vodou

Postup:

1. Fixace čnělky v ethanol – octové fixáži 30 minut až několik hodin.
2. Macerace ve vroucí vodě 5 – 10 minut, silnější a tvrdší čnělky až 25 minut.
3. Projasňování v 60% kyselině mléčné asi 30 min. při teplotě 60°C.
4. Barvení ve směsi barviva 30 – 60 min. při teplotě 60°C.
5. Opláchnutí barviva v kyselině mléčné a uzavření čnělky pod krycí sklo do kyseliny mléčné.
6. Roztlačení pletiv jemným tlakem na krycí sklo.

B. Barvení pylových láček v čnělce po maceraci v 1N HCl

(podle doporučení prof. Bohdana Rodkiewicza, Univerzita M.C. Skłodowské, Lublin, Polsko)

Postup I.:

1. Fixace čnělky v ethanol – octové fixáži 30 minut až několik hodin.
2. Macerace v 1N-HCl asi 10 minut.
3. Důkladné promytí vodou.
4. Barvení ve směsi barviva 30 – 60 min. při teplotě 60°C.
5. Opláchnutí barviva v kyselině mléčné a uzavření čnělky pod krycí sklo do kyseliny mléčné.
6. Roztlačení pletiv jemným tlakem na krycí sklo.

Výsledek:

Pylové láčky se barví intenzivně modře ve srovnání s okolními pletivy.

Hodnocení:

Preparát pozorujeme v procházejícím světle. Srovnáme a vyhodnotíme výsledky obou postupů barvení.

Literatura:

Lux, A., Erdelská, O. (1998): Praktikum z anatomie a embryologie rostlin. Bratislava : Univerzita Komenského, 135 s. ISBN 80-223-1229-0.