

Vitální barvení, rostlinná buňka, buněčné organely

Vitální barvení – používá se u nativních preparátů a rozumíme tím zvýšení kontrastu určitých buněčných složek v živých buňkách, nebo tkáních pomocí barvení vodnými roztoky organických barviv. Rozeznáváme barvení **intravitální** (barvivo se vstříkne do tělních tekutin organismu) a **supravitální** (barvivo působí po určitou dobu na tkáň vyňatou z organismu). Při **postvitálním** barvení se barví odumírající buňky.

Při těchto způsobech barvení se používají: 1. **barviva zásaditá** (bazická) jako je např. kresylviolet, Janusova zeleň, neutrální červeň. 2. **barviva kyselá** např. trypanová modř, malachitová zeleň. Jednoduchým způsobem lze takto kontrastovat řadu buněčných struktur – např. mitochondrie (Janusova zeleň), vakuoly rostlinných buněk (neutrální červeň), Golgiho komplex (trypanová modř), cytoplazmu buněk (Kongo červeň), tukové buňky (sudanová barviva III a IV) a mnoho dalších.

Rostlinná buňka se spolu s buňkami živočišnými a buňkami hub řadí mezi Eukaryota. To znamená, že mají pravé **jádro** a obsahují nitrobuňčné struktury, tzv. **organely**. Cytoplazma mezi nimi se nazývá **cytosol**. Rostlinná buňka se od živočišné liší především přítomností buněčné stěny a přítomností plastidů.

Buněčná stěna – je složena celulósových mikrofibril a amorfních hmot (hemicelulóz, pektinů, bílkovin).

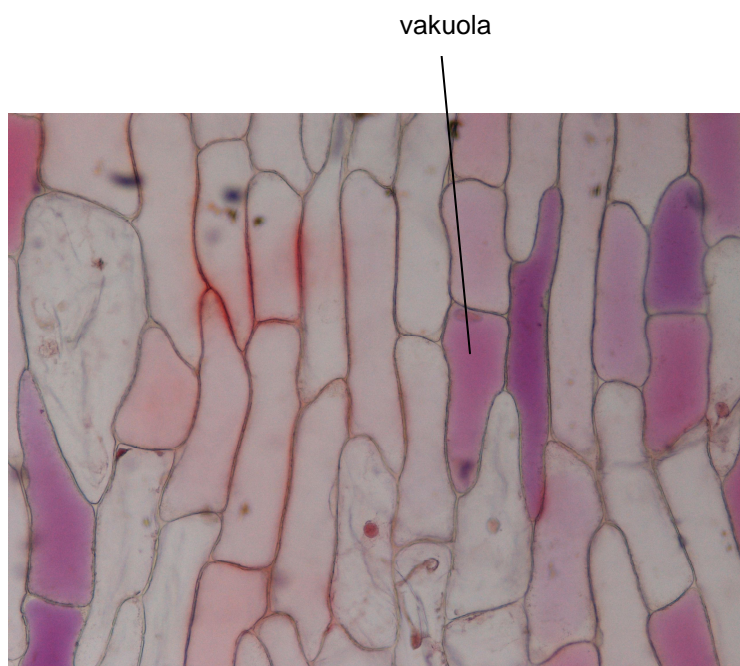
Plastidy – podle obsahu převládajících barviv se dělí na bezbarvé leukoplasty, žluté nebo červené chromoplasty a zelené chloroplasty. **Leukoplasty** jsou bezbarvé plastidy v buňkách zásobních, zejména podzemních částí rostlin. Hromadí se v nich rostlinné produkty a vzniká tak např. škrobové zrno. **Chromoplasty** obsahují karoteny a xantofyly, které určují jejich zbarvení. **Chloroplasty** jsou obalené dvojicí membrán a vnitřní matrix je rozdělena systémem tylakoidů, které vznikly vchlípením a odškracením vnitřní membrány. Na tylakoidní systém je vázána světelná fáze fotosyntézy, temnotní reakce probíhají v matrix.

Mitochondrie - jsou součástí prakticky všech eukaryotických buněk. Jsou to organely aerobního metabolismu. Jsou obalené dvojicí membrán, vnitřní prostor je vyplněn matrix. Vnitřní membrána mitochondrií se vchlipuje a vytváří tzv. krysty.

Vakuoly – vyskytují se především u rostlinných buněk, ale jsou přítomny i u některých živočišných buněk a buněk hub. U rostlinných buněk, hlavně u starších a diferencovaných, zaujímají většinu prostoru buňky a cytoplazma zde tvoří jen tenkou vrstvu podél stěny. Membrána oddělující vakuolu od cytoplazmy se nazývá tonoplast.

1. Pozorování vakuol v buňkách pokožky cibule

Starší buňky obsahují obvykle jednu vakuolu. Cytoplazma je zatlačena k buněčné stěně a tvoří tenký nástěnný povlak. S cytoplazmou je k buněčné stěně zatlačeno i buněčné jádro



Obr. 2. Vakuoly v buňkách pokožky cibule

Pomůcky:

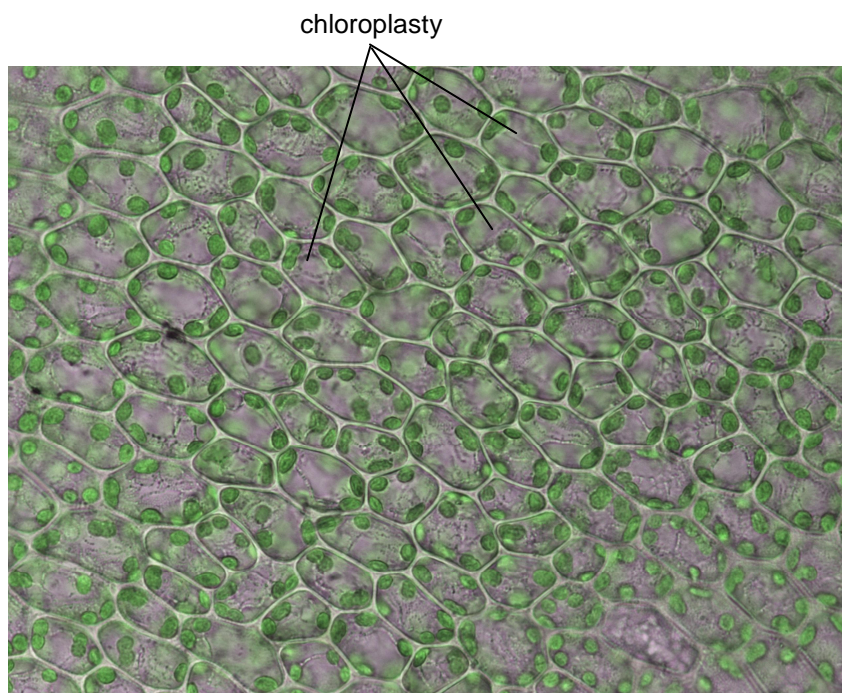
Cibule (*Allium cepa*), vodný roztok neutrální červeně, potřeby k mikroskopování, pinzeta, žiletka. (Neutrální červeně je vhodná k barvení vakuol, připravuje se vodný roztok 1: 10 000).

Postup:

Žiletkou provedeme dva souběžné poledníkové řezy ve vzdálenosti asi 5 mm a kolmo na ně dva souběžné rovníkové řezy ve vzdálenosti asi 5 mm. Vzniklé čtverečky suknic vyloupneme a pomocí pinzety z jejich vnitřní strany stáhneme pokožku suknic, kterou přeneseme do kapky neutrální červeně na podložním sklíčku. Asi po 15 minutách přeneseme čtvereček pokožky do kapky vody, přikryjeme krycím sklíčkem a pozorujeme pod mikroskopem.

1. Pozorování chloroplastů v buňkách mechu měříku

Lístky měříku jsou tvořené jednou vrstvou buněk, a proto není nutné dále preparát upravovat. Pro pozorování jsou vhodnější mladé lístky z vrcholu rostlinky.



Obr.4: Chloroplasty mechu měříku

Pomůcky:

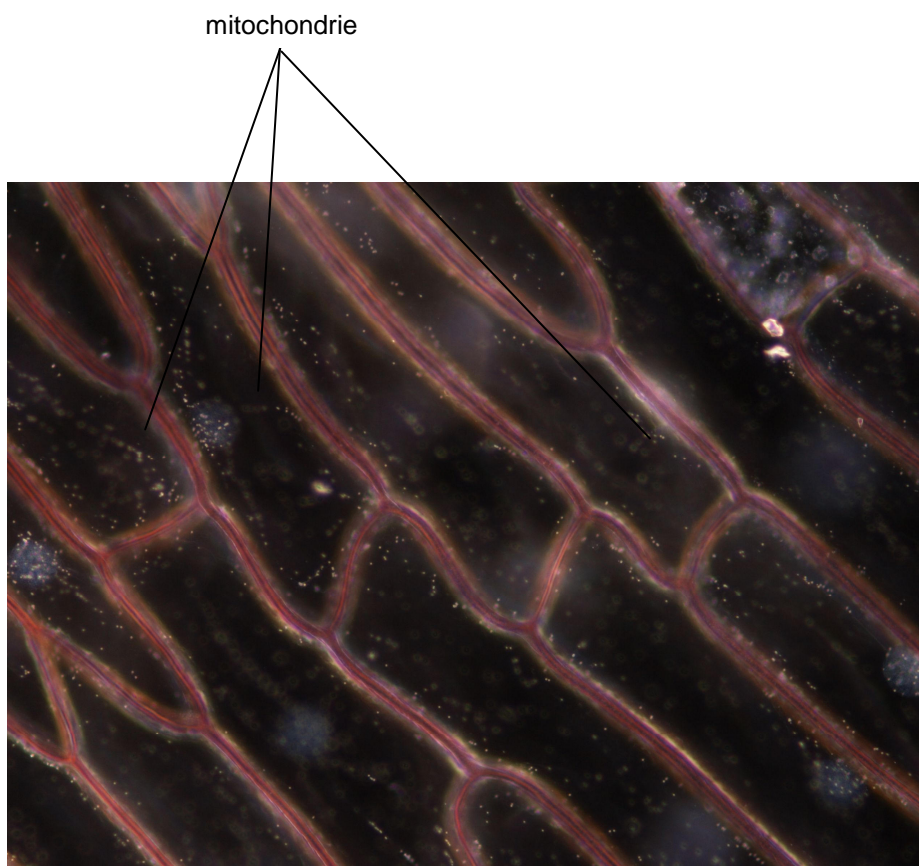
Mech měřík (*Mnium sp.*), potřeby k mikroskopování.

Postup:

Pinzetou utrheme lístek (fyloid) měříku a přeneseme ho do kapky vody na podložním sklíčku. Přikryjeme krycím sklíčkem a pozorujeme pod mikroskopem.

Vitální barvení mitochondrií

Mitochondrie můžeme pozorovat buď na živých nekontrastovaných preparátech (za pomoci fázového kontrastu), tak na živých buňkách kontrastovaných pomocí vitálního barvení Janusovou zelení.



Obr.5: Mitochondrie v pokožce cibule

Pomůcky:

Cibule, barvicí roztok – 8,5 g NaCl a 0,1 g Janusovy zeleně rozpustíme v 1l vody.

Postup:

Malý kousek (asi 3 x 3 mm) vnitřní pokožky suknice cibule vložíme do kapky roztoku Janusovy zeleně na podložním sklíčku. Asi po 15 minutách přikryjeme krycím sklíčkem a pozorujeme pod mikroskopem buňky při okraji preparátu.

4. Pozorování škrobových zrn

Škrob je zásobní látkou u rostlin, ukládá se v leukoplastech zásobních buněk, především v podzemních orgánech rostlin, nebo v semenech. Tvar zrnek zásobního škrobu je u různých rostlin různý a pro určitou rostlinu charakteristický.

přirůstové zóny škrobových zrn



Obr.5: Škrobová zrna

Pomůcky:

Hlíza bramboru, preparační jehla, potřeby pro mikroskopování.

Postup:

Na podložní sklo nakápneme trochu vody a rozmícháme v ní trochu bramborového škrobu. Přikryjeme krycím sklem a pozorujeme pod mikroskopem.

Pozorování:

Nakreslete a popište všechny pozorované objekty. Preparáty pozorujte ve světlém poli, tmavém poli a ve fázovém kontrastu. Napište, která technika je pro pozorování daného objektu nejvhodnější.