

## **MIKRORELIÉFOVÁ METODA - POZOROVÁNÍ POVRCHU NEPRŮHLEDNÝCH OBJEKTŮ**

Povrch neprůhledných objektů (v našem případě celých listů) není možné studovat v běžném biologickém mikroskopu, který pracuje v procházejícím světle. V tomto případě lze použít buď mikroskopii v dopadajícím světle (což vyžaduje jinou konstrukci mikroskopu), nebo můžeme pozorovat pouze izolovanou (strženou) epidermis. Izolace epidermis u některých taxonů však není snadná nebo je zcela nemožná. Třetí možností studia povrchu neprůhledných objektů je využití mikroreliefové metody.

### Princip mikroreliefové metody:

Rostlinná pokožka nemá rovný povrch, její buňky jsou nejčastěji ve středu své zevní plochy vypouklé, kdežto nad antiklinálními (k zevnímu povrchu kolmými) buněčnými stěnami epidermálních buněk je povrch snížený. Stejně nerovné jsou povrchy svěracích buněk průduchů. Jestliže na takový nerovný povrch pokožky naneseme vrstvičku rychle tuhnoucí kapalně průhledné hmoty, získáme odlitek (otisk) jejího mikroskopického reliéfu = **mikrorelief**, který po sejmutí můžeme snadno pozorovat.

Metoda se používá k demonstraci stavby epidermis listu, k lokalizaci a uspořádání průduchů, dále k orientačnímu stanovení stupně ploidie, v taxonomii při hledání diakritických znaků, ve fyziologických pokusech (vodní provoz, minerální výživa rostlin), v kriminalistice apod. Výhodou této metody je rychlost a nízké náklady.

### Materiál:

Listy různých rostlin, např.:

- *Begonia semperflorens* – begonie (kysala), „voskovka“
- *Pteris cretica* – křídelnice krétská
- *Nephrolepis exaltata* – nefrolepis (ledviník)
- *Cyperus alternifolius* – šáchor střídavolistý
- *Tradescantia albiflora* (syn. *T. viridis*) – poděňka, „blázen“
- *Chlorophytum comosum* – zelenec cůpkatý, apod.

### Pomůcky:

Mikroskop, preparační souprava, bezbarvý lak na nehty, izolepa.

### Postup:

1. Na povrch rubu listu nanese tenkou vrstvu bezbarvého laku na nehty o ploše asi  $0,5 \text{ cm}^2$  a necháme dobře zaschnout. Vybíráme pokud možno co nejrovnější plochu.
2. Dostatečně zaschlou vrstvu laku sejmem pomocí pinzety a vložíme do kapky vody na podložním skle.
3. Přikryjeme krycím sklem.
4. Preparát pozorujeme v mikroskopu ve světlém poli, pro zvýraznění struktur je vhodné použít šikmé osvětlení, které kontrastuje hrany souběžné s optickou osou a zvětšuje rozlišovací schopnost.
5. Zakreslíme tvar epidermálních a průduchových buněk, zjistíme, zda jsou vyvinuty rovněž tzv. vedlejší buňky .

V jiné variantě je možné snímat lakový otisk z povrchu listu pomocí čtverečku izolepy, který nalepíme na povrch listu přes zaschlou vrstvu laku. Potom izolepu i s otiskem strhneme a přilepíme na podložní sklo. Získáme tak víceméně trvalý preparát, který je možné studovat i s časovým odstupem.

### Poznámka:

Mikroreliéfovou metodu můžeme používat při studiu povrchu všech listů, které nejsou opatřeny mnoha trichomy. Tuto metodu není výhodné používat u taxonů, které mají vyvinutou silnou kutikulu, která může zahlazovat nerovnosti v mikroreliéfu nebo naopak vytvářet různé struktury (např. vlnky) na povrchu epidermálních buněk a zastírat tak vlastní strukturu epidermis. Otisky odebíráme zpravidla ze spodní (abaxiální) strany listu, protože spodní epidermis většinou obsahuje více průduchů a bývá méně znečištěna. Je nutné si uvědomit, že nepozorujeme pokožku, ale pouze její otisk. Nemůžeme tedy pozorovat obsah buněk, ale jenom povrchové struktury epidermis nebo kutikuly.

### Výsledky:

Kresba otisku mikroreliéfu listu vybraných rostlin s popisem.

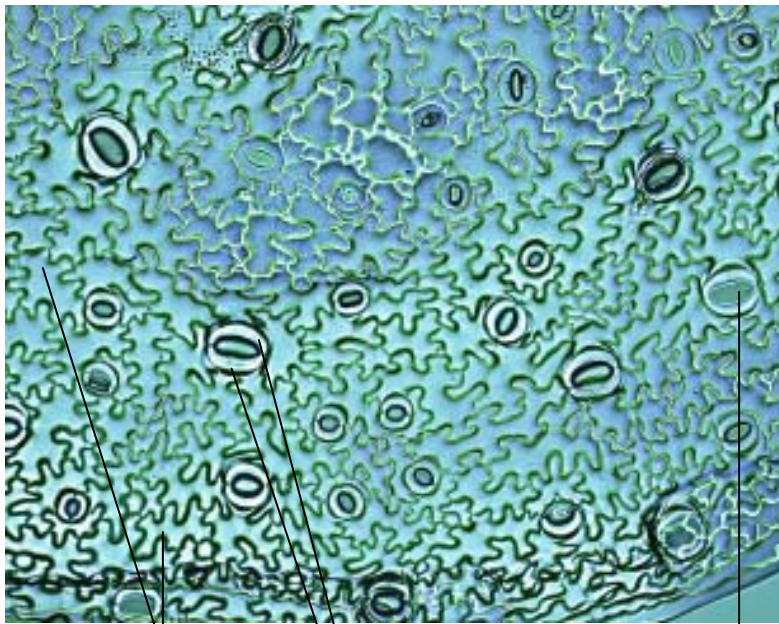
### Závěry:

Hodnocení výsledků použití metody otiskových preparátů a vlastního pozorování.

Literatura:

1. Opravilová, V., Knoz, J. *Základy mikroskopické techniky*. Brno: Masarykova univerzita, Vyd. 1. 1992.
2. Pazourková Z. *Botanická mikrotechnika*. Praha: Univerzita Karlova, Vyd. 1, 1982.

Příklad otisku mikroreliéfu povrchu dělohy tabáku



epidermální buňky

štěrbina průduchu

svěrací buňky průduchu

Epistomatické listy – průduchy pouze na svrchní (adaxiální) straně listu  
 Hypostomatické listy – průduchy pouze na spodní (abaxiální) straně listu  
 Amfistomatické listy – průduchy na obou stranách listu

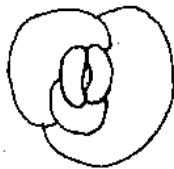
### Ontogeneze svěracích a vedlejších buněk průduchů:

- mezogenní: svěrací buňky i vedlejší buňky pocházejí z téže iniciály
- perigenní: ...z různých iniciál
- mezoperigenní: pouze část vedlejších buněk pochází ze stejné iniciály jako buňky svěrací

### DICOT STOMATAL APPARATUS TYPES

a. Anomocytic (no pattern)

b. Anisocytic



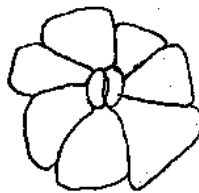
e. Tetracytic



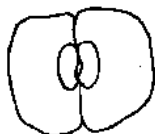
c. Diacytic



f. Actinocytic

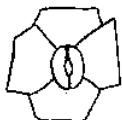


d. Paracytic

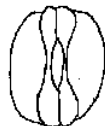


### MONOCOT STOMATAL APPARATUS TYPES

a. Banana -  
-4-6 subsidiary cells (s.c.)



c. Maize - 2 s.c.



b. Palm  
-4-6 s.c., two of them small and round



d. Iris - no apparent s.c.

