

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Pedagogická fakulta
Katedra fyzika, Oddělení didaktik a technické výchovy

**MIKROSKOPICKÁ STAVBA DŘEVA V LABORATORNÍCH CVIĚNÍCH
PŘEDMĚTU MATERIÁLY A TECHNOLOGIE**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vedoucí diplomové práce: PaedDr. Jiří Vintř

Autor: Jaroslav Filip

Datum odevzdání: 25. 4. 2008

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

Datum:22. 4. 2008

Zde bych rád poděkoval všem kteří mi při tvorbě této diplomové práce pomohli. Mé díky náleží katedře biologie za velmi vstřícný přístup při tvorbě praktické části této diplomové práce a zejména techničce katedry paní Mirce Krovové jenž mi byla při práci nápomocna. Největší dík vyjadřuji PaedDr. Jiřímu Vintrovi jenž mi po celou dobu vytváření diplomové práce pomáhal a věnoval svůj čas.

Anotace diplomové práce

Mikroskopická stavba dřeva v laboratorních cvičeních předmětu Materiály a technologie

Tato diplomová práce se dělí na teoretickou a praktickou část.

Teoretická část na základě studijní literatury popisuje problematiku mikroskopické stavby dřeva s potřebnou grafickou dokumentací a popisem. Dále pak odborným způsobem popisuje technologii přípravy a výroby vzorků dřevin pro mikroskopické pozorování.

Praktická část zahrnuje zhotovení sady preparátů pro pozorování mikroskopické stavby dřeva odpovídající potřebám výuky předmětu Laboratorní cvičení - dřevo. K jednotlivým preparátům je připraven souborný seznam s popisem.

Microscopic wood construction in laboratory exercising subject of Materials and Technology

This dissertation is divided into theoretic and practical sections.

The theoretic part, is based on study literature, representing the problematic microscopic wood construction, with the necessary graphics documentation and definition. Also including the technology of preparation and production samples of species for microscopical observation.

The practical part includes a set of specimens for microscopical wood anatomy observation accordant to the fabrication and education needs in the subject Laboratory practice-Wood. For every single preparation is provide a cumulative list and description.

Obsah

1. Úvod.....	7
2. Dřevo	8
2.1. Obecná definice dřeva jako materiálu	8
2.2. Druhy dřevin a jejich třídění.....	8
2.3. Základní řezy dřevem	9
2.3.1. Příčný (transverzální) řez.....	9
2.3.2. Radiální (Středový, poloměrový) řez.....	10
2.3.3. Tangenciální (tečný, fládrový) řez.....	10
2.4. Makroskopická struktura dřeva	11
2.4. Makroskopické znaky dřeva	11
2.4.1. Letokruhy.....	11
2.4.2. Dřeňové paprsky	12
2.4.3. Cévy (tracheje).....	12
2.4.4. Pryskeřičné kanálky.....	13
2.4.5. Dřeňové skvrny.....	13
2.4.6. Suky	13
2.4.7. Povrchové a vzhledové vlastnosti.....	13
2.4.8. Fyzikální a mechanické vlastnosti dřeva	14
2.4.8.1. Hustota	14
2.4.8.2. Tvrdost.....	14
2.5. Mikroskopická stavba dřeva	14
2.5.1. Anatomická stavba dřeva jehličnanů	15
2.5.1.1. Trachejdy	15
2.5.1.2. Parenchymatické buňky	16
2.5.1.3. Dřeňové paprsky jehličnatých dřevin	16
2.5.1.4. Pryskeřičné kanálky.....	17
2.5.1.5. Podélný dřevní parenchym	17
2.5.1.6. Uspořádání buněk ve dřevě jehličnanů.....	17
2.5.1.7.1. Pohled na jednotlivé mikroskopické řezy dřevem jehličnanů	18
2.5.2. Anatomická stavba dřeva listnáčů	19
2.5.2.1. Cévy	19
2.5.2.1.1. Dvojtečky (dvůrkaté ztenčeniny).....	20

2.5.2.2. Librifornní vlákna (sklerenchym).....	21
2.5.2.3. Parenchymatické buňky listnáčů	21
2.5.2.3.1. Dřeňové paprsky listnáčů.....	22
2.5.2.3.2. Podélný (axiální) dřevní parenchym listnáčů	22
2.5.2.4. Tracheidy (cévice) dřeva listnáčů	23
2.5.2.5. Uspořádání buněk ve dřevě listnáčů	24
2.5.2.5.1. Pohled na jednotlivé mikroskopické řezy dřevem listnáčů	25
2.5.3. Určování dřev dle mikroskopické stavby	26
2.5.3.1. Určování listnatých dřevin dle mikroskopické struktury.....	26
2.5.3.2. Určování jehličnatých dřevin dle mikroskopické struktury.....	33
3. Technologie přípravy a výroby vzorků dřevin pro mikroskopické pozorování.....	36
3.1. Vzorek dřeva vhodný pro pozorování mikroskopem	36
3.2. Základní metody mikroskopického zpracování vzorků dřeva.....	36
3.2.1. Schéma při zhotovování trvalého preparátu dřeva	36
3.3. Výběr a orientační řezy vzorků.....	37
3.4. Fixace.....	38
3.4.1. Volba vhodné fixáže	39
3.4.2. Průběh fixace vzorku	39
3.4.3. Délka doby fixace	40
3.4.4. Vypírání fixace z preparovaného objektu.....	41
3.4.5. Fixace chemickými činidly	41
3.4.5.1. Zásady bezpečnosti práce	41
3.4.5.2. První pomoc při úrazech	42
3.4.5.3. Druhy fixází	42
3.4.5.3.1. Formaldehyd	43
3.4.5.3.2. FPA (formaldehyd-propiono-etanol)	43
3.4.5.3.2. FAA (formaldehyd-aceto-etanol)	43
3.4.5.3.3. Carnoyova atano-chloroform-octová fixáž.....	44
3.4.5.3.4. Němcova bichromato-chrom-formaldehydová fixáž.....	44
3.4.5.4. Odvodňování preparátů vypraných z fixáže	44
3.5. Měkkčení preparovaných vzorků.....	45
3.6. Práce s mikrotomem	47

3.6.1. Řezání objektů zalitých do parafinových bločků.....	48
3.6.2. Sáňkový mikrotom.....	49
3.6.3. Postup práce na sáňkovém mikrotomu	49
3.6.4. Postup práce na rotačním mikrotomu	50
3.6.5. Mikrotomový nůž	51
3.6.6. Broušení a obtahování mikrotomového nože	51
3.5.7. Tvary mikrotomových nožů.....	51
3.6.8. Skon nože při řezání	52
3.6.9. Nastavení nože vzhledem k jeho pohybu	52
3.7. Bílení řezu.....	52
3.8. Barvení řezu	53
3.9 Odvodňování vzorků.....	53
3.10. Uzavírání vzorku.....	53
3.11. Popisování sklíček	53
3.12. Použité metody při zhotovování preparátů	54
4. Mikroskopie	55
4.1. Světelný mikroskop	55
4.2. Složení jednoduchého pozorovacího mikroskopu	56
4.2.1. Objektiv	57
4.2.2. Okulár	57
4.2.3. Elektronický okulár.....	57
4.2.4. Zdroj osvětlení pro pozorovaný vzorek	57
4.2.4.1. Světlo odrážené zrcátkem	57
4.2.4.2. Přímé osvětlení zdrojem umělého světla	58
4.2.5. Kondenzor.....	58
4.2.6. Clona	59
4.2.7. Stativ a upevňovací prvky.....	59
4.3. Zaostřování mikroskopu a posun vzorku.....	59
5. Závěr	61
Seznam použitých zdrojů	62
Literatura.....	62
Internet.....	62

1. Úvod

Ze zveřejněných témat diplomových prací mě několik vypsanych témat zaujalo. Po delší úvaze a několika konzultacích s vedoucími jednotlivých diplomových prací jsem se rozhodl pro vypracování práce vypsané PaedDr. Jiřím Vintrem. Práce s názvem Mikroskopická stavba dřeva v laboratorních cvičeních předmětu materiály a technologie pro mne byla zajímavá hned z několika hledisek. Jednou z částí této práce je vytvoření trvalých preparátů pro pozorování mikroskopické stavby dřeva, tato praktická část mě velmi zaujala. Při studiu předchozích ročníků pedagogické fakulty jsem se v laboratoři na katedře technické výchovy setkal se vzorky mikroskopické stavby dřeva které byly staré, vybledlé a někdy i jinak poškozené. Bylo mi jasné že vyrobením nových vzorků pomohu nejen katedře, ale i to že vzorky budou sloužit dlouhou řadu let k výuce.

Při výběru dřevin jsem se snažil o co největší rozmanitost vzorků a o zastoupení všech u nás typických dřevin. Při zpracování vzorků jsem se snažil o získání co nejvyšší kvality vytvářených vzorků. Tato práce pro mne byla velkým přínosem a obohacením. Zejména četbou související literatury jsem získal množství nových informací. Celá problematika mikroskopické struktury dřeva se mi stala velmi blízkou.

Dále je třeba se zmínit o obsahu teoretické části této diplomové práce. Nejdůležitější základ tvoří dvě velké kapitoly. V první z těchto dvou částí se věnuji rozdělení druhů dřevin, makroskopické a mikroskopické stavbě dřeva a popisu jednotlivých řezů. Velmi důležitá je zde část věnující se mikroskopické struktuře dřeva, zde v podstatě popisují vše co je reálně možné pozorovat na vzorcích které jsem vytvořil v rámci praktické části této diplomové práce. Ve druhé velké části se věnuji postupu při zhotovování trvalého mikroskopického preparátu dřeva, tato část je velice úzce spjata s praktickou částí diplomové práce. V této části je popsán zejména postup a možnosti při zhotovení preparátů.

2. Dřevo

2.1. Obecná definice dřeva jako materiálu

Dřevo řadíme mezi materiály organického původu, je vytvářeno vytrvale dřevnatějícími rostlinami při růstu kmenů, větví a kořenů do délky a tloušťky. Z morfologické stránky se dřevo skládá z buněk, z chemické jde o materiál lignocelulozový, skládající se z polysachridické složky, tu představuje celulóza, hemicelulóza, malou měrou pektinové látky a aromatické složky reprezentované ligninem.

Vzhledem k tomu, že buňky tvořící dřevo jsou většinou protáhlé, orientované rovnoběžně s osou kmene, nebo větve a uspořádané koncentricky okolo ní, nemá dřevo v jednotlivých směrech stejnou strukturu, ani vlastnosti. Dřevo je tedy anizotropním materiálem, proto jeho znaky hodnotíme ve třech základních rovinách (řezech), které je nutno při popisu respektovat (viz. Kapitola – Základní řezy dřevem).

2.2. Druhy dřevin a jejich třídění

Jako základního rozdělení lze použít dělení na dřeviny listnaté a jehličnaté. Listnaté jsou takové, které v pravidelných ročních obdobích vyměňují listy. Jehličnaté dřeviny jehličí s trvalým porostem (v našem podnebném pásmu tvoří vyjímku modřín). Dále se dřeviny dělí podle tvrdosti (více v kapitole - Makroskopická struktura dřeva).

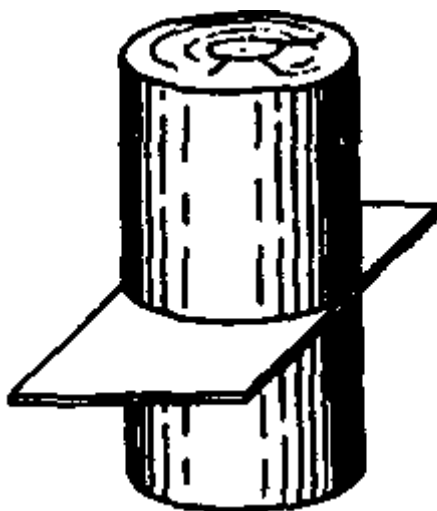
Jednotlivé druhy dřevin rozeznáváme podle jejich anatomických znaků, ty pozorujeme buď makroskopicky, nebo mikroskopicky. Makrostrukturní metody pozorování nazýváme též jako smyslové. K pozorování těchto znaků používáme zrak, hmat a čich. Nejvýraznějšími takto pozorovatelnými znaky dřevin jsou barva, průběh letokruhů, tvar a rozmístění pórů. Dále při makrostrukturním pozorování sledujeme vady dřeva, jeho vůni, hladkost a další pozorovatelné znaky. Mnohem zajímavější a pro tuto diplomovou práci i důležitější je mikroskopická stavba dřeva. Při mikrostrukturním pozorování sledujeme stavbu dřeva a utváření buněk a cév. Buňky není možné pozorovat pouhým zrakem, nebo pod pozorovací lupou, proto je nutno použít pozorovacího mikroskopu.

2.3. Základní řezy dřevem

Pro pozorování dřeva používáme tři základní řezy, příčný, radiální a tangenciální. Stejně roviny řezů používáme jak pro makrostrukturální, tak i pro mikrostrukturální pozorování vzorků dřeva. Pomocí těchto řezů se sleduje a popisuje struktura a vlastnosti jednotlivých dřevin. Každý typ řezu je vhodný pro pozorování jiných vlastností dřeva, nebo pro zkoumání jiných buněk vzorku. Řezy vedeme s ohledem na pozorovaný objekt, a to zejména při pozorování mikroskopických struktur a jednotlivých buněk, tak aby pozorovaná buňka byla ve vzorku co nejlépe pozorovatelná.

2.3.1. Příčný (transverzální) řez

Tento řez je veden v rovině kolmé na osu kmene. Tímto řezem rozřízneme příčně většinu anatomických elementů. Tento řez je rozpoznatelný zejména podle koncentricky probíhajících letokruhů. Na tomto řezu je nejlépe vidět rozdíl mezi letním a zimním přírůstkem dřeva, velikost přírůstku hmoty dřeva je zároveň na tomto řezu možno měřit. Transverzální řez také ukazuje na věk stromu a na podmínky jeho růstu, případně i na klimatické rozdíly mezi jednotlivými roky jeho růstu. Pro označení tohoto řezu se používá jedno písmenné označení "P".



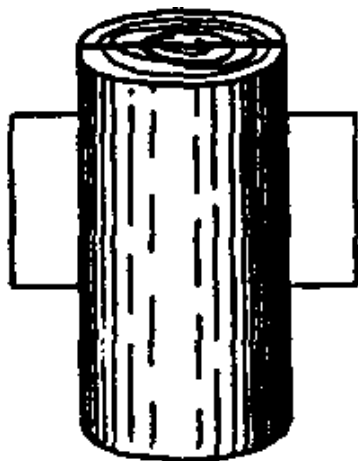
Obr. č. 1 Příčný řez kmenem



Obr. č. 2 Pohled na příčný řez

2.3.2. Radiální (Středový, poloměrový) řez

Tento řez je veden v rovině rovnoběžné na osu kmene a prochází osou kmene (dření). Základním rozpoznávacím znakem tohoto řezu jsou letokruhy tvořící rovnoběžné pásy. Pro označení tohoto řezu se používá jedno písmenné označení "R".



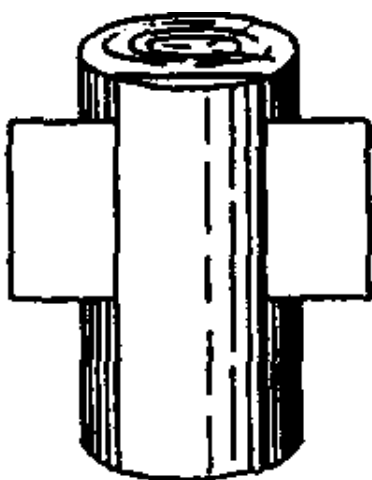
Obr. č. 3 Radiální řez kmenem



Obr. č. 4 Pohled na radiální řez

2.3.3. Tangenciální (tečný, fládrový) řez

Tento řez je veden v rovině rovnoběžné na osu kmene a neprochází osou kmene (dření). Nejvýraznějším rozpoznávacím znakem tohoto řezu jsou parabolické útvary tvořené letokruhy, tuto kresbu nazýváme fládr. Pro označení tohoto řezu se používá jedno písmenné označení "T".



Obr. č. 5 Tangenciální řez kmenem



Obr. č. 6 Pohled na tangenciální řez

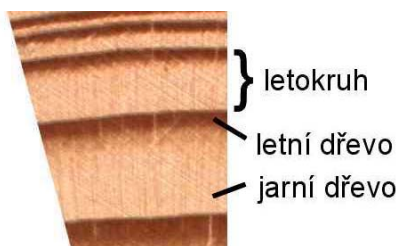
2.4. Makroskopická struktura dřeva

Makroskopickou stavbou dřeva se rozumí soubor morfologických znaků, které lze pozorovat pouhým okem, nebo za pomoci pozorovací lupy. Základní makroskopické znaky dřeva jsou letokruhy, jarní a letní dřevo, dřeň, póry, dřeňové paprsky a pryskyřičné kanálky. Dalším znakem je i přítomnost bělového a jádrového dřeva. Vzhledem k anizotropii dřeva se jeví každý z těchto znaků v jednotlivých základních řezech odlišně. Při makroskopickém pozorování nemusí být u všech druhů dřeva všechny vyjmenované znaky pozorovatelné, záleží na jejich rozměrech a na přítomnosti ve struktuře. Tímto způsobem je identifikace možná zpravidla jen na úroveň rodu dřeviny, druhové jméno většinou určit nemůžeme.

2.4. Makroskopické znaky dřeva

2.4.1. Letokruhy

Letokruh je tloušťkový (radiální) přírůstek hmoty dřeva za jedno vegetační období, je tvořen zejména činností dělivých buněk kambia. Letokruhy vznikají vlivem přerušení tloušťkového růstu dřeva v průběhu vegetačního klidu, který nastává v mírném a chladném pásmu. Přírůstky jednotlivých letokruhů se na sebe vrství a tím vzniká kuželovitý tvar kmene stromu. V letokruhu lze u většiny dřev rozlišit jarní část letokruhu (je světlejší) a letní část letokruhu (je tmavší).



Obr. č. 7 Letokruhy

Podle tvaru letokruhů na příčném řezu rozlišujeme tyto skupiny dřev:

- dřeva jehličnatých dřevin
- dřeva listnatých dřevin s kruhovitě pórovitou stavbou
- dřeva listnatých dřevin s polokruhovitě pórovitou stavbou
- dřeva listnatých dřevin s roztroušeně pórovitou stavbou

První tři skupiny mají letokruhy s jasně oddělenými přírůstky jarního a letního dřeva. U posledně jmenované skupiny jsou letokruhy většinou nezřetelné a nelze přesně odlišit přírůstky jarního a letního dřeva.

2.4.2. Dřeňové paprsky

V podstatě jde o různě mohutná seskupení parenchymatických buněk, ty jsou orientována kolmo na osu kmene.

Z makroskopického pohledu se dřeňové paprsky dělí na tři skupiny:

- široké (jsou viditelné ve všech třech řezech)
- úzké (jsou viditelné v R-řezu)
- velmi úzké (makroskopicky nezřetelné)

V pohledu jednotlivých řezů se jeví dřeňové paprsky takto:

- P-řez – pásy kolmé na letokruhy
- R-řez – lesklé plošky (nazýváme je zrcátka)
- T-řez – svislé čárky

2.4.3. Cévy (tracheje)

Jsou to vodivé částice dřeva listnáčů. Jde o různě dlouhé kapiláry orientované ve směru osy kmene. Při makroskopickém pozorování rozlišujeme makrocévy (mají průměr větší než 0,1mm a jsou okem viditelné), mikrocévy (mají průměr menší než 0,1mm a nejsou viditelné pouhým okem). Mikrocévy jsou vidět pouze u dřev s kruhovitě pórovitou stavbou.

Dřeva listnáčů dělíme podle uspořádání tracheí takto:

- dřeva listnatých dřevin s kruhovitě pórovitou stavbou
- dřeva listnatých dřevin s polokruhovitě pórovitou stavbou
- dřeva listnatých dřevin s roztroušeně pórovitou stavbou

V pohledu jednotlivých řezů se jeví tracheje takto:

- P-řez – drobné otvory
- R a T-řez – svislé rýhy

2.4.4. Pryskyřičné kanálky

Jsou tvořeny buňkami jenž tvoří a vylučují pryskyřici. Jde o charakteristický znak pro jehličnaté dřeviny, kromě jedle, tisu a jalovce. Makroskopicky lze pozorovat pouze vertikálně orientované kanálky, horizontální nejsou viditelné.

V pohledu jednotlivých řezů se jeví tracheje takto:

- P-řez – drobné tečky
- R a T-řezy – svislé jemné pásy vyplněné pryskyřicí

2.4.5. Dřeňové skvrny

Jde o pásy takzvaně hojivého parenchymu, které vznikly v důsledku poškození kambia hmyzem nebo bakteriemi. Výskyt těchto skvrn je nejběžnější u dřevin listnatých stromů.

Ve všech řezech se jeví jako hnědé skvrny různých tvarů, zpravidla v blízkosti letokruhů.

2.4.6. Suky

Ze suků vyrůstají větve, nebo jsou jejich pozůstatky. Suky jsou považovány za vadu dřeva. U dřev jehličnanů nám můžou posloužit jako pomocný určovací znak.

V pohledu jednotlivých řezů se jeví suky takto:

- P a T-řez – převážně oválný tvar
- R-řez – tmavší pruh jdoucí kolmo na osu kmene

2.4.7. Povrchové a vzhledové vlastnosti

Jde o vlastnosti dřeva patrné zrakem, hmatem a čichem. Některá dřeva mají například specifickou vůni podle níž jdou spolehlivě identifikovat. Nejdůležitější povrchové a vzhledové vlastnosti dřeva jsou tyto: barva, lesk, zvláštnosti textury dřeva, očka, svalovosti, kořenice, lískovcové dřevo, reakční dřevo, vůně.

2.4.8. Fyzikální a mechanické vlastnosti dřeva

Pro určování dřevin dle makroskopických vlastností jsou pro nás nejdůležitější a při praktickém určování nejpoužitelnější mechanické vlastnosti hustota a tvrdost.

2.4.8.1. Hustota

Hustota dřeva se značí písmenem ρ , jde o poměr hmotnosti a objemu. Jako jednotku zpravidla používáme kg/m^3 . Hustota je měřena při vlhkosti dřeva 12%.

Podle hustoty dělíme dřeva na:

- 1). lehká – s hustotou do 540 kg/m^3 – smrk, jedle, borovice, topol, lípa
- 2). středně těžká - s hustotou $540\text{-}750 \text{ kg/m}^3$ – modřín, buk, dub, jilm
- 3). těžká - s hustotou nad 750 kg/m^3 – akát, habr

2.4.8.2. Tvrdost

Tvrdost je označována jako schopnost dřeva klást odpor proti vnikání jiného tělesa. Vzhledem k tomu že dřevo není homogenním materiálem je určování tvrdosti dřeva obtížnější. Čelní tvrdost měříme při vlhkosti dřeva 12%. Pro běžné makroskopické určování stačí určit tvrdost vzorku orientačně vrypem.

Dle tvrdosti dělíme dřeva na:

- 1). měkká – smrk, jedle, lípa
- 2). středně tvrdá – modřín, buk, dub
- 3). tvrdá – akát, habr

2.5. Mikroskopická stavba dřeva

Mikroskopickou stavbu dřeva zkoumáme, podobně jako makroskopickou, ve třech řezech, příčném, radiálním a tangenciálním. Aby bylo možno pozorovat strukturu tkáně je nutno vytvořit tak tenké řezy, aby jimi prošel při pozorování dostatek světla.

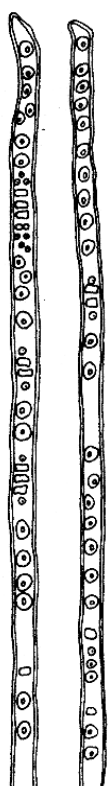
Tak jako u jiných rostlinných organismů tak i u dřevin je většina hmoty tvořena rostlinnými buňkami, které jsou stmeleny porézním vazivem. Větší buňky lze sledovat již při dvacetinásobném zvětšení, pro kvalitní pozorování používáme zvětšení na několika setnásobek původního obrazu. Buňky dřeva jsou rozmanité nejen co se týče funkce, ale i co se

týče tvaru. Složení dřeva listnatých a jehličnatých stromů se liší, proto popis rozdělují do dvou podkapitol. V první části bude popsána základní anatomická stavba jehličnatých dřevin a ve druhé části se budeme věnovat stavbě dřeva listnáčů.

2.5.1. Anatomická stavba dřeva jehličnanů

Dřevná hmota jehličnanů je tvořena těmito částicemi:

2.5.1.1. Trachejdy



Obr . 8 Vertikální tracheidy



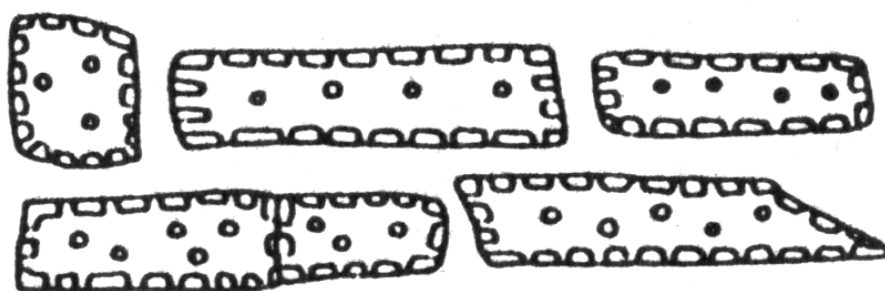
Obr. 9 Horizontální (ležaté) tracheidy

Tracheje tvoří až 90% objemu dřeva jehličnatých dřevin. Tyto buňky mají většinou protáhlý tvar a na koncích jsou zašpičatělé. Živé tracheje jsou obsaženy pouze ve vrstvě posledního letokruhu kmene rostliny. Tracheje postupně odumírají, koncem zimy odumřou všechny tracheje posledního ročního kruhu. Jarní tracheje vytvořené v jarním dřevě mají hlavně vodivou funkci. Letní tracheje (jsou obsaženy v letní části letokruhu) mají funkci mechanickou. Jejich blány jsou silnější na úkor velikosti lumenu. Konce letních trachejí jsou zakončeny více do špice. Uvnitř jednotlivých letokruhů je přechod mezi jarními a letními trachejemi pozvolný a není ostře ohraničen. Na stěnách trachejí jsou umístěny tzv. dvojbody,

nacházejí se většinou u jejich konců a slouží ke spojení se sousedními trachejemi. U dřevin s pryskyřičnými kanálky se dále vyskytují horizontální (hladké) tracheje. Ležaté tracheje jsou součástí dřevňových paprsků.

2.5.1.2. Parenchymatické buňky

Parenchymatické buňky mají hranolovitý tvar. Typickými ztenčeninami v těchto buňkách jsou jednoduché ztenčeniny zvané tečky. Parenchymatické buňky zůstávají většinou dlouho živé. Buňky obsahují protoplazmu, škrob, olej, pryskyřici a třísloviny. Tyto buňky slouží k látkové výměně a k ukládání zásobních látek. Paranchym v jádře dřeva odumírá a látky které obsahuje způsobují zbarvení jádra. Radiálně uložené parenchymatické buňky vytvářejí dřevňové paprsky. Axiálně uložené parenchymatické buňky vytvářejí podélně dřevní parenchym. U některých dřevin jehličnanů tvoří pryskyřičné kanálky.



Obr. 10 Parenchymatické buňky

2.5.1.3. Dřevňové paprsky jehličnatých dřevin

Dřevňové paprsky jehličnatých dřevin jsou tvořeny parenchymatickými buňkami. Paprsky se hvězdovitě rozbíhají z jádra nebo jednotlivých letokruhů. Tyto paprsky jsou kolmé na vlákno dřeva a v transverzálním řezu jsou patrné jako tmavší pásy probíhající mezi drobnými otvory trachejí. Při pohledu na tangenciální řez jsou patrné jako příčky kolmé na tracheje a vlákna. Na tangenciálním řezu jsou paprsky patrné jako větvenité útvary u nichž lze spočítat počet buněčných vrstev.

Dřevňové paprsky u jehličnatých dřevin dělíme:

- 1). Homogenní – jsou tvořeny pouze parenchymatickými buňkami
- 2). Heterogenní - jsou tvořeny parenchymatickými buňkami a ležatými tracheidami

2.5.1.4. Pryskyřičné kanálky

Tyto kanálky se vyskytují u většiny našich jehličnatých dřevin, výjimku tvoří jedle, tis a jalovec. Ve dřevě listnatých stromů se pryskyřičné kanálky netvoří. Kanálky vznikají rozestoupením buněk a vyplněním vzniklého prostoru pryskyřicí. Pro vznik pryskyřičných kanálků je důležitá vrstva epitelových buněk na jeho vnitřním obvodu, tyto buňky vylučují pryskyřici.

Pryskyřičné kanálky dělíme na dva typy:

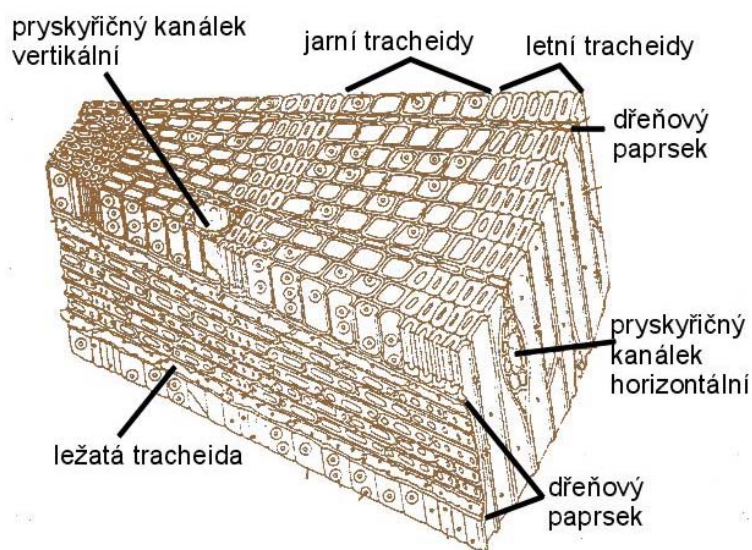
- 1). Vertikální kanálky – ty jsou uloženy rovnoběžně s osou kmene
- 2). Horizontální kanálky – ty jsou uloženy naopak kolmo na osu kmene

2.5.1.5. Podélný dřevní parenchym

Podélný (axiální) dřevní parenchym je tvořen svislými řadami parenchymatických buněk s přehrádkami kolmými nebo šikmými k podélným stěnám. Podélný dřevní parenchym se u dřev jehličnanů mnoho nevyskytuje, u některých dřev zcela chybí. Vyskytuje se zejména okolo pryskyřičných kanálků.

2.5.1.6. Uspořádání buněk ve dřevě jehličnanů

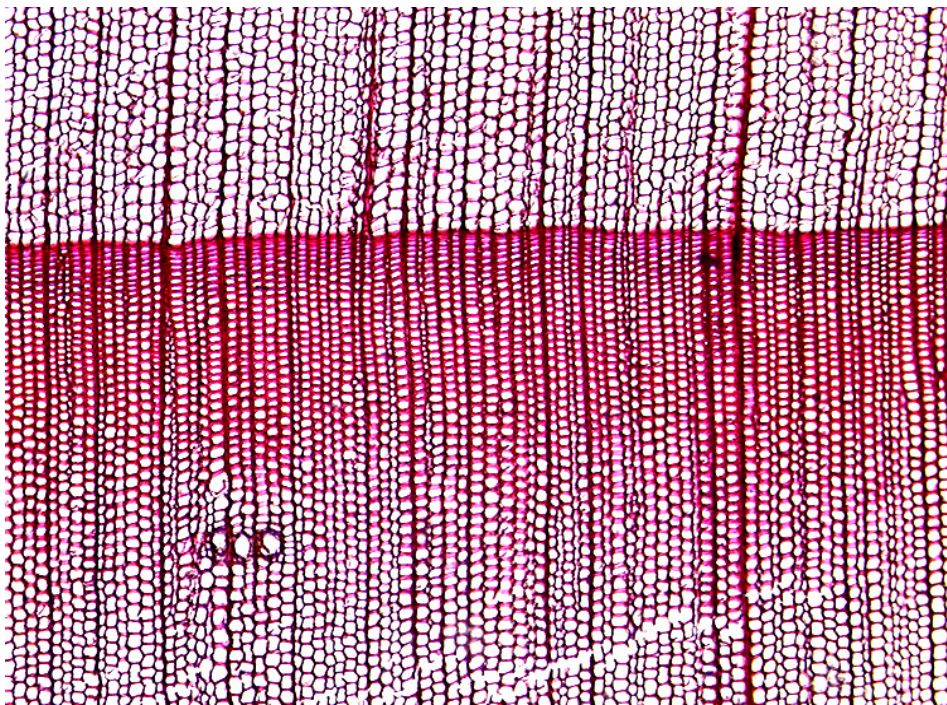
Na obrázku vidíme uspořádání buněk ve dřevě jehličnanů. Uspořádání je přehledně zobrazeno ve všech třech řezech.



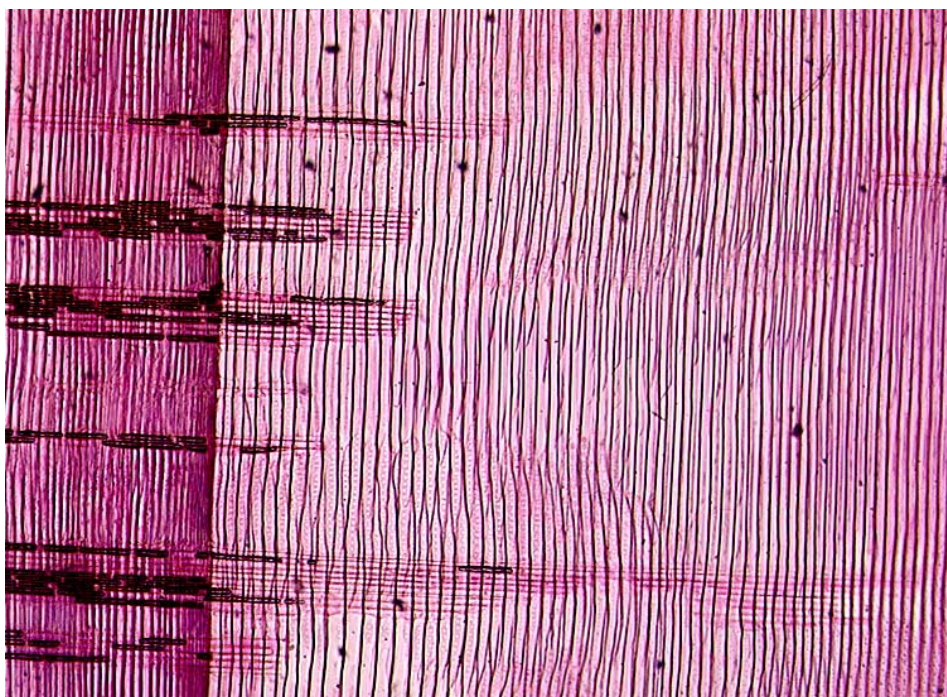
Obr. 11 Uspořádání buněk ve dřevě jehličnanů

2.5.1.7.1. Pohled na jednotlivé mikroskopické řezy dřevem jehličnanů

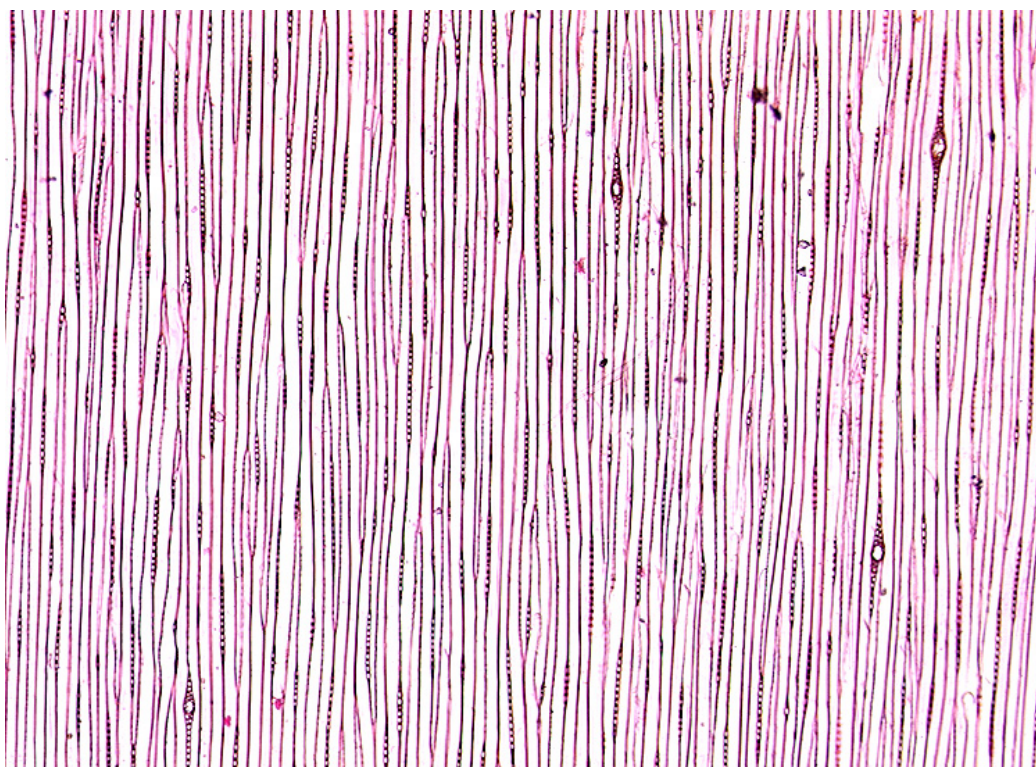
Na obrázcích 12, 13 a 14 vidíme fotografie mikroskopických preparátů dřeva smrku. Fotografie zobrazují všechny tři řezy dřevem. Na řezech je patrné rozmístění jednotlivých buněk.



Obr. 12 Příčný řez – smrk



Obr. 13 Radiální řez – smrk



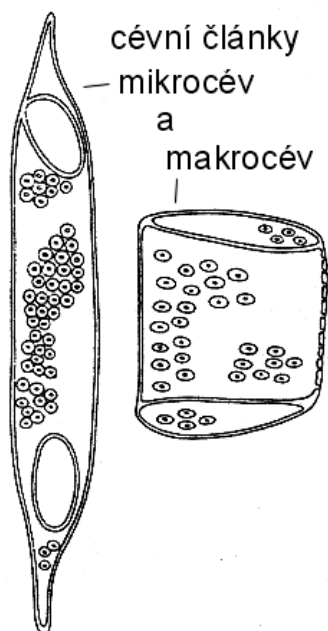
Obr. 14 Tangenciální řez – smrk

2.5.2. Anatomická stavba dřeva listnáčů

Dřevná hmota listnáčů je tvořena těmito částicemi:

2.5.2.1. Cévy

Cévy jsou značně protáhlé, odumřelé buňky které mají značně ztloustlé stěny. Těmito cévami jsou ve dřevě voděny výživné roztoky. Tyto vodivé částice jsou v listnatých dřevinách umístěny axiálně. Tracheje, takzvané pravé cévy, tvoří dlouhé kanálky sestavené s buněk bez příčných příhrádek. Pokud se u přepážky vytvoří jeden otvor, nazýváme tuto perforaci jednoduchou, když se vytvoří několik štěrbinovitých otvorů, poté perforaci nazýváme schodovitou. Poté co dojde ke spojené buněk protoplazma a jádro odumírají. Tyto cévy mohou mít celou řadu tvarů, mohou být vřetenovité, válcovité nebo soudkovité, tvarování cév zvyšuje jejich pevnost. Jarní cévy jsou u některých stromů výrazně širší než v letním dřevě. Díky tomu se při pohledu pouhým okem může zdát, že se tyto cévy vyskytují jen v jarním dřevě a jejich uspořádání je kruhové podle letokruhů. Takovýto typ dřeva se nazývá kruhově pórovitý, naopak dřeva u nichž se široké cévy vyskytují v celém dřevě nazýváme



cévní články
— mikrocév
a
makrocév

roztroušeně pórovitá. Délka cév je v jarním dřevě přibližně 0,4mm a v letním dřevě jsou o něco delší.

Z hlediska příčných rozměrů cévy rozdělujeme na:

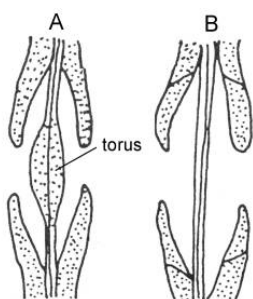
Makrocévy – mají rozměr větší než 0,1 mm

Mikrocévy – mají rozměr menší než 0,1 mm

Cévy mají na svých stěnách typické dvůrkaté ztenčiny (dvojtečky).

Obr. 15 Céva

2.5.2.1.1. Dvojtečky (dvůrkaté ztenčiny)



Dvůrkaté ztenčiny
(dvojtečky)

A - dvojtečka jehličnanů (T)

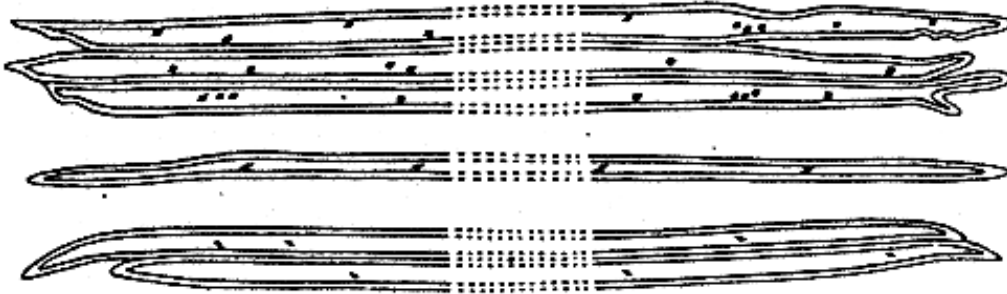
B - dvojtečka listnáčů (T)

C - dvojtečka z pohledu R řezu

Obr. 16 Dvůrkaté ztenčiny

Tyto ztenčiny představují mikroskopická místa buněčných stěn, kde chybí sekundární buněčná stěna. Tyto ztenčiny stěn nejsou typická jen u cév listnatých stromů ale vyskytují se i u tracheid jehličnanů a tracheid listnáčů. U tracheid jehličnanů má dvojtečka uzavírací blanku ztlouklou do tvaru diskového útvaru nazývaného torus. Dvojtečky buněk dřev listnáčů jsou rozměrově menší než u buněk jehličnanů a netvoří torus.

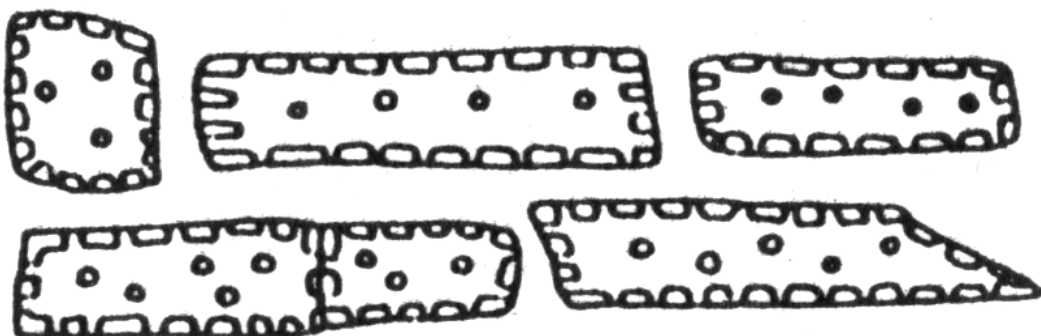
2.5.2.2. Libriformní vlákna (sklerenchym)



Obr. 17 Libriformní vlákna (sklerenchym)

Tento druh buněk je vyvinut pouze u listnatých dřevin, je příčinou jejich větší pevnosti a prezentuje přibližně jednu polovinu jeho hmoty. Tyto buňky jsou v podstatě vyztužovacími elementy dřeva listnáčů. Jde o dlouhé a na koncích zašpičatělé buňky které jsou do sebe navzájem zaklíněné. Poté co buňky dorostou tak odumírají a jsou vyplněny vzduchem. U tvrdých dřevin mají tyto buňky stěny velmi tlusté. Buňky jsou řídkce tečkované se šikmými štěrbinovými póry. Libriformní vlákna vytvářejí vláknité snopce viditelné pouhým okem, tyto útvary se nazývají libriform.

2.5.2.3. Parenchymatické buňky listnáčů



Obr. 18 Parenchymatické buňky listnáčů

Tyto buňky jsou svojí stavbou a svým tvarem podobné parenchymatickým buňkám jehličnanů. Těchto buněk je ve dřevěch listnáčů znatelně více než ve dřevěch jehličnanů. Buňky mají hranolovitý, krychlovitý, nebo vřetenovitý tvar. Pro parenchymatické buňky jsou typické jednoduché ztenčeniny zvané tečky. Buňky mají pomocnou vodivou, zásobovací funkci.

Radiálně natočené buňky tvoří dřeňové paprsky. Radiálně položené buňky tvoří podélný dřevní parenchym.

2.5.2.3.1. Dřeňové paprsky listnáčů

Dřeňové paprsky listnáčů jsou tvořeny různě mohutnými soubory buněk, ty jsou orientovány kolmo na osu kmene. Tyto paprsky jsou vrstveny v jedné až mnoha vrstvách, tohoto znaku můžeme využít při určování druhu dřevin. Vrstvenost je nejlépe vidět na tangenciálním řezu. Dřeňové paprsky listnáčů jsou tvořeny parenchymatickými buňkami různého tvaru. Buňky jsou ležaté stojaté, nebo čtvercové.

Dřeňové paprsky u listnáčů dělíme na dva typy:

- 1). Homogenní – jsou tvořeny parenchymatickými buňkami stejného tvaru
- 2). Heterogenní - jsou tvořeny parenchymatickými buňkami různých tvarů

Jsou však dřeviny u nichž se setkáváme s nepravými dřeňovými paprsky, například jedle a olše. Nepravé (někdy zvané sdružené) dřeňové paprsky jsou souborem drobných dřeňových paprsků, ty jsou na sebe nahuštěny a jeví se jako jeden mohutný dřeňový paprsek.

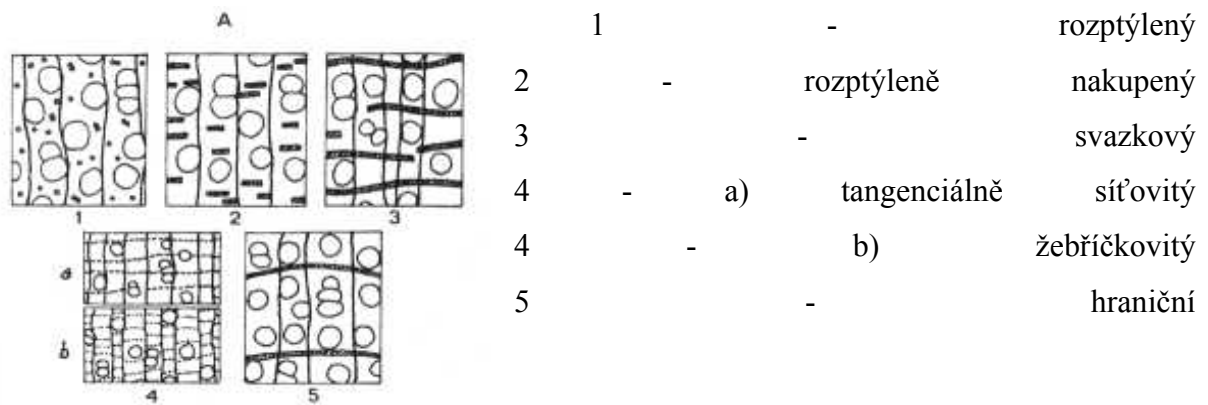
2.5.2.3.2. Podélný (axiální) dřevní parenchym listnáčů

Tyto útvary jsou tvořeny soubory parenchymatických buněk orientovaných souběžně s osou kmene. Buňky mají na příčném řezu oválný tvar. Od jiných vláken (librifornních vláken nebo vláknitých tracheid) se obvykle liší tenčími buněčnými stěnami a obsahem.

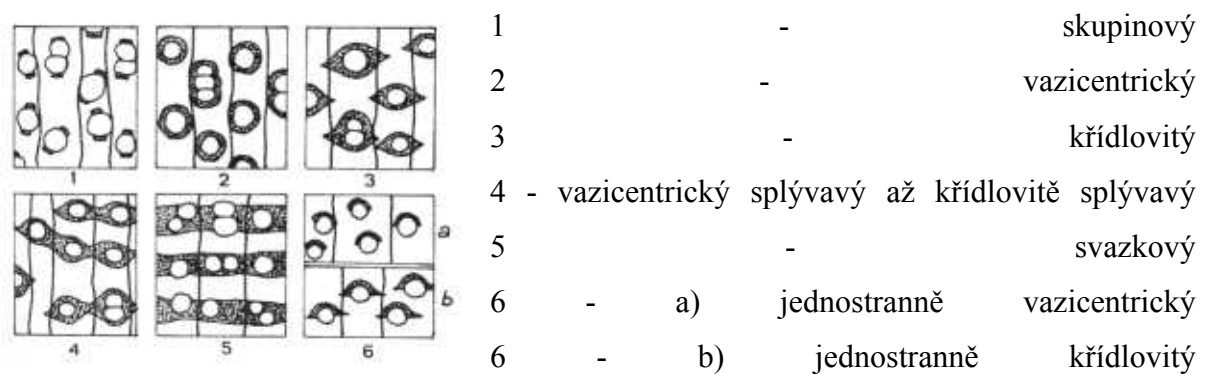
Podélný dřevní parenchym lze podle seskupení rozlišit na:

- 1). Apotrachální – jeho buňky nemají kontakt s vodivými anatomickými elementy
- 2). Paratrachální – jeho buňky jsou seskupeny v blízkosti vodivých elementů

Při pozorování vzorků dřeva listnáčů nám podélný dřevní parenchym může být vodítkem ke správnému určení druhu dřeva.

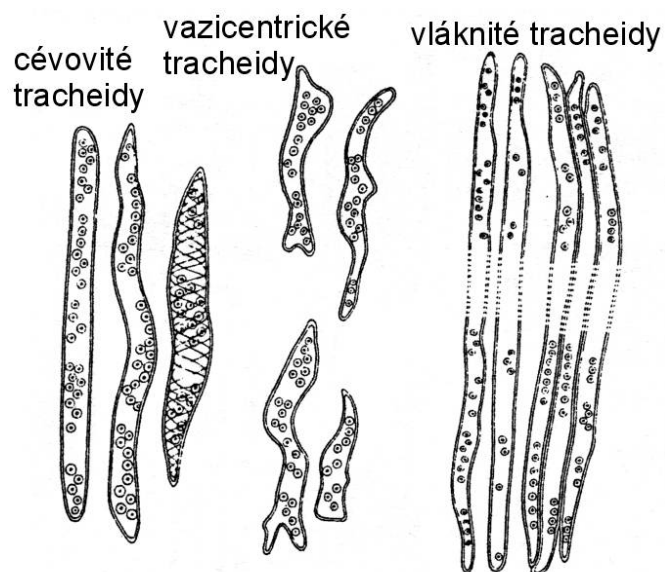


Obr. 19 Apotracheální - podélný dřevní parenchym listnáčů



Obr. 20 Paratrachální - podélný dřevní parenchym listnáčů

2.5.2.4. Tracheidy (cévice) dřeva listnáčů



Obr. 21 Tracheidy (cévice) dřeva listnáčů

Tracheidy (cévice) se vyskytují ve dřevě některých listnatých dřevin. Zpravidla je obtížné je rozlišit od libriforních vláken. Tracheidy (cévice) jsou na rozdíl od trachejí bez perforace, obsahují zase množství uzavíratelných pórů. Stěny tracheid jsou zdřevnatělé a často bývají vyztužené šroubovicemi. Tracheidy mohou být krátké (cévovité) a protáhlé (vláknité). Na stěnách tracheid je řada teček a dvojteček.

Tracheidy (cévice) se vyskytují do třech formách:

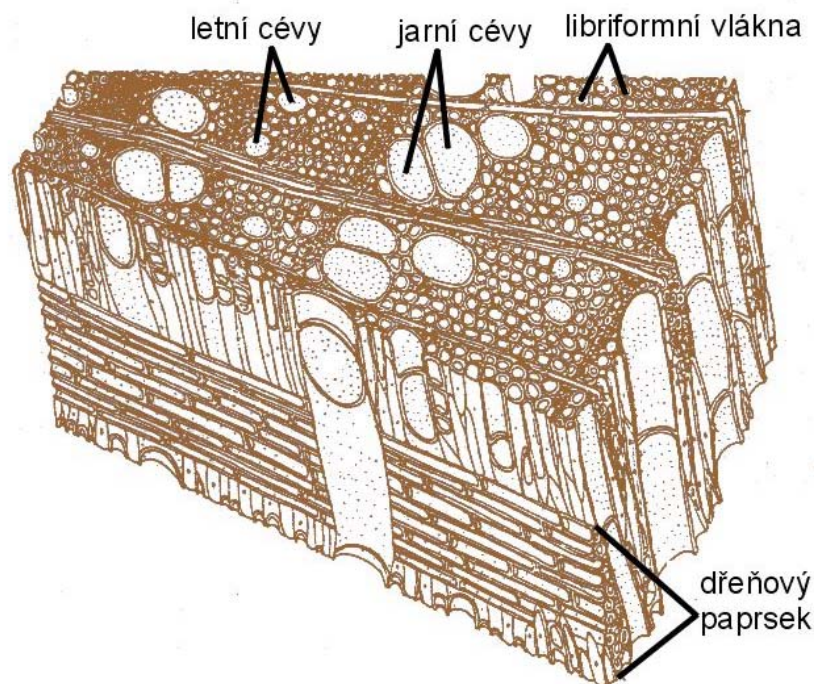
1). Cévovité tracheidy – tvoří jakýsi přechod tracheidami jehličnanů a cévami listnáčů. Jde o protáhlé uzavřené buňky s dvojtečkami na stěnách. Tyto buňky mají vodivou funkci.

2). Vazicentrické tracheidy – jde o krátké buňky nepravidelného tvaru. Tyto buňky se vyskytují v blízkosti cév a na stěnách mají drobné dvojtečky. Mají pomocnou vodivou funkci.

- Vlákňité tracheidy – jde o jakýsi přechodný typ anatomické částice mezi tracheidami listnáčů a libriforními vlákny listnáčů. Často jde o tlustostěnné protáhlé a zašpičatělé buňky s malými okrouhlými dvojtečkami na stěnách. Funkce těchto buněk je mechanická.

2.5.2.5. Uspořádání buněk ve dřevě listnáčů

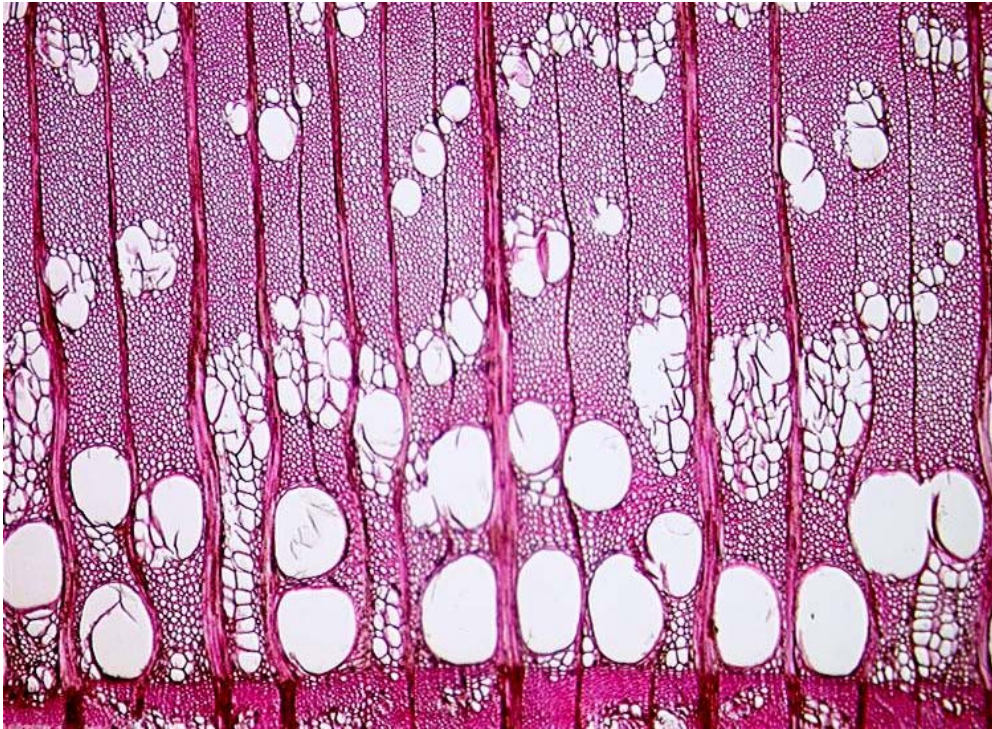
Na obrázku vidíme uspořádání buněk ve dřevě listnáčů. Uspořádání je přehledně zobrazeno ve všech třech řezech.



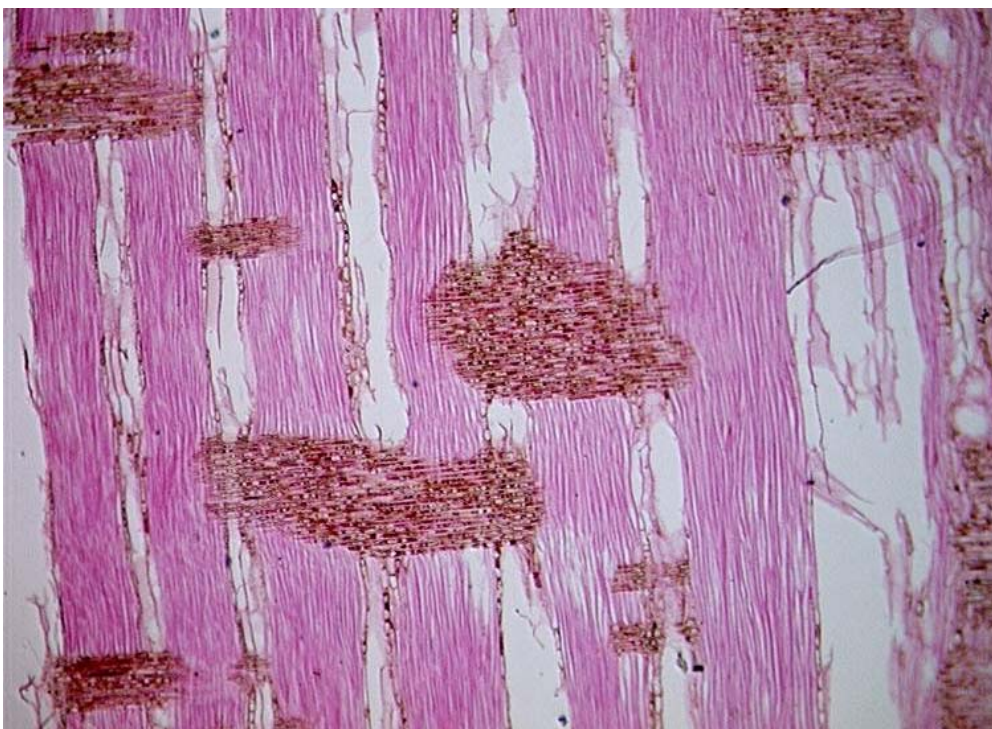
Obr. 22 Uspořádání buněk ve dřevě listnáčů

2.5.2.5.1. Pohled na jednotlivé mikroskopické řezy dřevem listnáčů

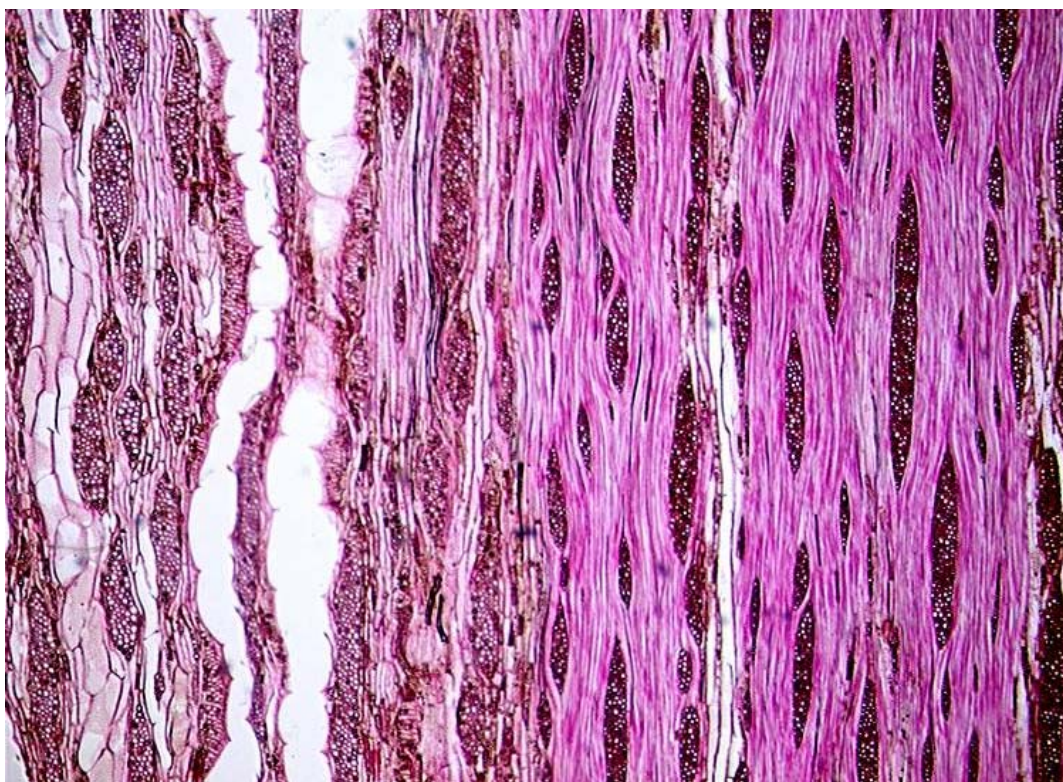
Na obrázcích 23, 24 a 25 vidíme fotografie mikroskopických preparátů dřeva jilmu. Fotografie zobrazují všechny tři řezy dřevem. Na řezech je patrné rozmístění jednotlivých buněk.



Obr. 23 Příčný řez – jilm



Obr. 24 Radiální řez – jilm



Obr. 24 Tanenciální řez – jilm

2.5.3. Určování dřev dle mikroskopické stavby

2.5.3.1. Určování listnatých dřevin dle mikroskopické struktury

Akát

Dřevo kruhovitě pórovité. Dřevo obsahuje všechny elementy dřevní stavby. Jarní tracheje jsou značně široké, jednotlivě nebo po dvou až třech ve skupinách a tvoří široké pásmo v letokruhu. Mají jednoduchou perforaci a četné dvojtečky s příčným, skulinovým pórem. Tracheje v pozdním dřevě letokruhu jsou těsně nahloučeny v skupinkách a spojeny v krátké šikmé pásy, bývají vyztužené šroubovitými lištami. Všechny cévy, hlavně v jádrovém dřevě, jsou vyplněny tenkostěnnými thyllami vyjma nejmladší letokruhy. Tracheidy jsou vesměs opatřeny šroubovicemi. Dřeňové paprsky homogenní jsou mnohvrstevné, výjimečně jednovrstevné. Buňky dřeňových paprsků jsou vesměs tlustostěnné, drobně tečkované, na tangenciálním řezu okrouhlé. Tu a tam obsahují drůzy krystalků štavelanu vápenatého. Dřevní parenchym je velmi hojný, obklopuje hlavně cévy. parenchymatické buňky bývají často protáhlé v typické vřetenovité buňky, jež jsou zvláště hojné v jarním dřevě. V raném dřevě

tvorí hlavní součást základní tkáně. libriform je hojně vyvinut zejména v pozdní vrstvě letokruhu a je složen z vláknitých, velmi tlustostěnných, řídce a drobně tečkovaných buněk, jež mají v jádrovém dřevě hnědý, tříslovinný obsah.

Bříza

Dřevo roztroušeně pórovité. Tracheje jsou úzké, ojedinělé nebo ve skupinách po 2-3, zřídka až po 7 v radiálních řadách s typickou mřížovou perforací a s četnými dvojtečkami na tangenciálních stěnách, dvojtečka mají skulinové póry, křížící se s póry sousedních cév. Dřeňové paprsky jsou homogenní, 1-3 vrstevné, zřídka 4 vrstevné, složené z buněk poměrně tlustostěnných a nápadně malých. libriformní vlákna jsou drobně a řídce dvojtečkovaná. V pozdním dřevě letokruhů tvoří dřevní vlákna tři až čtyři řady typických, tlustostěnných buněk, tangenciálně zploštělých. Dřevní parenchym je velmi sporů, složený z buněk podobných buňkám dřeňových paprsků a obsahuje značné množství tříslovin. Cévy ani v jádrovém dřevě neobsahují thylly.

Buk

Dřevo roztroušeně pórovité. Tracheje jsou velmi četné a hustě seřazené, ojedinělé nebo po dvou až šesti ve skupinkách. Širší cévy v jarní části letokruhu mají jednoduchou perforaci, užší cévy v pozdním dřevě mají mřížovitou perforaci (až 20 příček). Stěny cév jsou řídce tečkované a jen na styčných stěnách s dřeňovými paprsky jsou tečky hojnější. Dřeňové paprsky jsou značně široké a vysoké a jsou ve dvou různých velikostech: některé jsou jednovrstevné a menší počet je mnohvrstevných, složených z parenchymatických buněk poměrně tlustostěnných. Na hranici letokruhu jsou vždy rozšířené (příčný řez). Buňky dřeňových paprsků mají ve styčných stěnách s cévami velké jednoduché tečky. Dřevo obsahuje velmi četné vláknité tracheidy, které tvoří přechody k libriformním vláknům. Oboje tvoří hlavní součásti dřeva, jsou značně protáhlé, velmi tlustostěnné a řídce tečkované. Dřevní parenchym doprovází tracheje i tracheidy a je i bohatě rozptýlen mezi dřevními vlákny. Skládá se z protáhlých buněk drobně tečkovaných, s příčnými stěnami často šikmými. Vnitřní část dřeva je sušší a nemá jádro barevně vyznačené a odlišné od běli. Pouze při tvorbě nepravého jádra jsou cévy často vyplněny thyllami, zvláště v okrajových partiích, a parenchymatické buňky dřeňových paprsků obsahují načervenalé až nažloutlé, různě velké kúlovité nebo zrnité inkluze. Přítomnost thyll a obsah dřevních gum jsou mikroskopické příznaky nepravého jádra.

Dub

Dřevo kruhovitě pórovité. Široké cévy s jednoduchou nebo mřížovitou perforací o hladkých stěnách, hustě tečkovaných. tracheje jsou osamocené nebo tvoří skupinky po 2-4. Tracheje pozdního dřeva a zužují a jsou sestaveny v radiálních řadách, sřídajících se s pruhy libriformu a dřevního parenchymu. perforace jarních cév je vesměs jednoduchá, úzké cévy mají většinou mřížovitou perforaci. Tracheální články jarních cév jsou kratičké, pozdější cévy mají články delší, vybíhající vedle perforace v tupý přívěsek. Stěny všech cév jsou hladké, ale hustě posety dvojtečkami a štěrbinovitými póry. Dřeňové paprsky jsou homogenní ve dvou různých velikostech: velmi široké, mnohvrstevné a úzké, nečastěji jednovrstevné. Libriform je bohatě vyvinut a skládá se z dlouze vláknitých, tlustostěnných buněk, převládá hlavně v pozdním dřevě. Dřevní parenchym je hojný v četných nepravidelných a jednořadých tangenciálních pásech, tvoří široké vrstvy, zejména v jarním dřevě. Náhradní buňky chybějí. V jaderném dřevě jsou cévy vyplněny thyllami.

Habr

Dřevo roztroušeně pórovité. Tracheje jsou úzké, ojedinelé nebo v radiálních řadách po šesti, s jednoduchou perforací a se stěnami vyztuženými jemnou šroubovicí (užší cévy). Dřeňové paprsky jsou homogenní, hojné, jednovrstevné a dvouvrstevné, složené z buněk poměrně tlustostěnných, Druží se často po několika v široké nepravé dřeňové paprsky. Množství těchto sdružených paprsků ve dřevě není u každého habru stejné, mění se podle stromu a půdy. V některém kmeni je jich velmi mnoho, u jiného někdy chybějí. Dřevní parenchym je hojný v jednobuněčných, krátkých, tangenciálních a šikmých řadách. libriformní vlákna jsou značně protáhlá, zašpičatělá a velmi hojná. Thylly se nevyskytují.

Hruška

Dřevo roztroušeně pórovité. Struktura je velmi podobná jabloňovému dřevu, tracheje nejčastěji jednotlivé nebo v malých skupinkách po 3-4, stejnoměrně roztroušené, s jednoduchou perforací a hladkými stěnami. Vláknité tracheidy jsou tlustostěnné a jako u jabloně zastupují chybějící libriform. Dřeňové paprsky jsou heterogenní, většinou vícevrstevné, dosti vysoké. Dřevní parenchym je velmi hojný, vtroušeny mezi vláknitými tracheidami. Parenchymatické buňky mají často hnědý obsah. thylly se nevyskytují

Jabloň

Dřevo roztroušeně pórovité. Tracheje mají jednoduchou perforaci a hladké stěny. Vláknité tracheidy zastupují libriform, který chybí tak jako u hrušky. Dřeňové paprsky jsou jedno i vícevrstevné, složené z buněk poměrně tlustostěnných, hustě tečkovaných. Dřevní parenchym je vtroušen v drobných skupinkách mezi vláknitými tracheidami. V jaderném

dřevě mají skoro všechny buňky, zejména parenchymatické a často i cévy, hnědý obsah a stěny nahnědlé.

Jasan

Dřevo kruhovitě pórovité. Tracheje v jarním dřevě jsou většinou jednotlivé nebo v párech, zřídka tvoří skupinky po třech, v pozdním dřevě po 2-4 ve skupinkách v krátkých radiálních řadách. Cévy mají jednoduchou perforaci a silné stěny poseté dvojtečkami, které jsou převážně okrouhlé a jen při velkém zhuštění mohou být též šestiboké. Póry tečka jsou vodorovné, oválné, štěrbinovité a v přilehlých dvojtečkách též zkřížené. Tracheidy chybějí. Dřeňové paprsky jsou homogenní, většinou vícevrstevné, složené z buněk tlustostěnných, dobře tečkovaných, skoro kvadratických, dosti stejně vysokých. Libriform je velmi hojný, z tlustostěnných, drobně tečkovaných vláken. Dřevní parenchym je vyvinut hlavně kolem cév a v hraniční vrstvě pozdního dřeva, skládá se z tlustostěnných, hustě tečkovaných buněk.

Javor

Dřevo roztroušeně pórovité. Cévy jsou většinou ojedinelé nebo po 2-5, zřídka i více ve skupinkách nebo v radiálních řadách. Mají jednoduchou perforaci a velmi husté, navzájem se dotýkající a hranatě stlačující dvojtečka se štěrbinovitým příčným pórem. Tracheje, jež hraničí s dřeňovými paprsky, mají tečky menší, tracheje hraničící s libriformem nemají tečky, ale jsou vyztuženy šroubovicí. Dřeňové paprsky homogenní jsou většinou vícevrstevné, jen ojedinelé jednovrstevné a nejvýše 20 buněk vysoké. Buňky dřeňových paprsků jsou tlustostěnné a mají husté velké tečky. Libriformní vlákna jsou velmi hojná, tvoří pravidelné radiální řady a skládají se z tlustostěnných, drobně tečkovaných vláken. Dřevní parenchym je velmi sporný, hlavně v okolí cév a v hraniční vrstvě letokruhů, kde se skládá ze zploštělých tlustostěnných buněk a tvoří úzký tangenciální pásy. Thylly nejsou vyvinuty.

Jeřáb

Dřevo roztroušeně pórovité. Tracheje jsou úzké, ojedinelé, stejnoměrně roztroušené s jednoduchou perforací vyztužené na stěnách jemnou šroubovicí. V pozdním dřevě jsou velmi četné cévy řidčeji rozmístěné, jenom ojedinelé a trochu hranaté. Dřeňové paprsky zřetelně heterogenní, většinou dvouvrstevné, některé též jednovrstevné, hustě vedle sebe seřazené, skládající se z poměrně tlustostěnných, tečkovaných buněk. Vláknité tracheidy jsou velmi hojné, tlustostěnné, dvojtečkované a někdy vyztužené jemnou šroubovicí. Dřevního parenchymu je málo a je vtroušen mezi trachejemi. Dřevní vlákna jsou jemně tečkovaná. Všechny parenchymatické buňky i mnohé cévy mají v jádrovém dřevě hnědý obsah.

Jilm

Dřevo kruhovitě pórovité. Tracheje v jarním dřevě tvoří radiální řady, mají jednoduchou perforaci a malé štěrbinovité tečka, často vyplněny thyllami. Tracheje v pozdním dřevě jsou o polovinu užší, mají též jednoduchou perforaci, na stěnách kulaté dvojtečky, často jsou vyztužené jemnou šroubovicí. Jsou sestaveny většinou v třířadových tangenciálních pásech. Tracheidy jsou hlavně v pozdní vrstvě a podobají se úzkým trachejím. Dřeňové paprsky jsou vícevrstevné, široké 3-6 buněk a vysoké 15-20 buněk, menší jsou jednovrstevné. Libriform je hojný, složený z tlustostěnných vláken řídkce a drobně tečkovaných. Dřevní parenchym je bohatě vyvinut, hlavně na začátku nového letokruhu a mezi skupinami velkých a malých cév. Paratracheální parenchym tvoří charakteristické kroužky kolem trachejí v pozdním dřevě a jeho buňky mívají zahnědlý obsah. V jádrovém dřevě bývají v cévách vyvinuty thylly.

Jírovec

Dřevo roztroušeně pórovité. Tracheje jsou ojedinelé nebo po 2-6 v radiálních řadách s jednoduchou perforací, jejich stěny jsou posety drobnými hustými dvojtečkami a vyztuženy šroubovicí. Dřeňové paprsky jsou jen jednovrstevné, složené z tlustostěnných a hrubě tečkovaných buněk. Libriform je hojný, složený z tlustostěnných, drobně a řídkce tečkovaných vláken a tvoří pravidelně radiální pruhy. Dřevní parenchym je velmi sporý a pouze v pozdní vrstvě letokruhů. jádrové dřevo má málo nebo žádné thylly.

Kaštan

Dřevo kruhovitě pórovité. Jarní tracheje mají hladké stěny s jednoduchou perforací. Dřeňové paprsky jsou homogenní, jednovrstevné, složené z tečkovaných buněk. Kolem cév je velmi hodný dřevní parenchym a vláknité tracheidy, jež převládají zejména ve vrstvě jarního dřeva.

Lípa

Dřevo roztroušeně pórovité. Přítomny jsou všechny dřevné elementy. Tracheje jsou úzké a ojedinelé nebo po několika v nepravidelných skupinách v krátkých radiálních řadách. Mají jednoduchou perforaci na stěnách dvojtečky a jsou vyztuženy silnou šroubovicí (nejlepší diagnostický znak pro dřevo lípy). Tracheidy se podobají až na perforované přehrádky trachejím, jsou ovšem užší a setkáváme se s nimi hlavně v pozdní vrstvě letokruhů. Dřeňové paprsky jsou homogenní, velmi různých výšek, skládají se z tečkovaných tenkostěnných buněk. Jejich tvar na tangenciálním řezu je nepravidelný, jsou často ohnuté nebo zprohýbané a šikmo položené. Dřevní parenchym je hojný, tvoří jednoduché přímé vrstvy z buněk zploštělých v radiálním směru, náhradní vlákna bývají na rozhraní vrstvy parenchymu s libriformem. Libriform je hojný, v vláken řídkce a drobně tečkovaných

Líska

Dřevo roztroušeně pórovité. Tracheje jsou úzké, ojedinělé nebo po 3-8 v radiálních řadách, s mřížovitou perforací a s velkými dvojtečkami na stěnách. Stěna bývá často vyztužena jemnou šroubovicí. Dřeňové paprsky jsou homogenní, jedno- až dvouvrstevné (sdružené třívrstevné), velmi různých výšek, složené z tečkovaných buněk. Dřevní parenchym je hojný. Libriform se skládá z tlustostěnných, drobounce a řídkce tečkovaných vláken.

Olše

Dřevo roztroušeně pórovité. Tracheje jsou úzké, velmi četné, ojedinělé nebo 2-6 v radiální řadě, s perforací mřížovitou (12-25 příček) a se stěnami hustě drobně dvojtečkovanými. Dřeňové paprsky jsou homogenní, jednovrstevné, složené z poměrně tenkostěnných tečkovaných buněk, s oranžovým obsahem. Často se seskupují vedle sebe ležící jednovrstevné dřeňové paprsky v jeden široký nepravý dřeňový paprsek, takže 3-4 dřeňové paprsky bývají sdruženy ve skupiny. V tangenciálním řezu jsou tyto jednovrstevné dřeňové paprsky často nepravidelně uspořádány. Mezi jednotlivým dřeňovými paprsky probíhají řady libriformních vláken málo a drobně tečkovaných. Dřevní parenchym je velmi hojný a ve skupinách roztroušený mezi dřevními vlákny.

Ořech

Tracheje jsou veliké, jednotlivě nebo po 2-4 v radiálních řadách a jejich průměr se zmenšuje rovnoměrně od raného dřeva k pozdnímu. Někdy jsou póry uspořádány do kruhu, nejčastěji ojediněle, ale též v krátkých radiálních skupinkách. cévy mají jednoduchou perforaci a jejich stěny jsou pokryty velkými dvojtečkami se skulinovitým pórem. V jádrovém dřevě bývají cévy často vyplněny thyllami. libriform je hojný, stěny jsou drobně tečkované a mezi vlákna je často vklíněn pruh metatracheálních parenchymu. Dřevní parenchymu se též vyskytuje v pozdním dřevě, kde tvoří dlouhé, jednořadé tangenciální svazky, kolem trachejí málo početné. Dřeňové paprsky jsou homogenní, většinou vícevrstevné, méně jednovrstevné, složené z parenchymatických buněk, o stěnách poměrně silných, drobně tečkovaných. parenchymatické buňky mívají často hnědý obal.

Platan

Dřevo roztroušeně pórovité. Tracheje jsou velmi četné, ojedinělé nebo ve skupinkách po 3-8 s jednoduchou nebo mřížovitou perforací a s řídkými dvojtečkami a štěrbinovými póry na stěnách. V jádrovém dřevě jsou cévy vyplněny thyllami. Vlákňité tracheidy chybějí. Libriform je mírně tlustostěnný, velmi hojný, dvojtečkovaný a v ní jsou vtroušena četná náhradní vlákna. Dřeňové paprsky jsou většinou vícevrstevné, složené z tlustostěnných buněk,

tu a tam uzavírajících krystalky šťavelanu vápenatého. Dřevní parenchym doprovází hlavně tracheje ve vrstvě pozdního dřeva a skládá se z protáhlých buněk drobně tečkovaných.

Švestka

Dřevo roztroušeně pórovité. Stavba podobná třešňovému dřevu. Tracheje jsou ojedinělé nebo v malých skupinkách po 3-5, s jednoduchou perforací a s kroužkovitými nebo šroubovitými lištami. Hojné vláknité tracheidy tvořící přechod k libriformním vláknům, jsou značně tlustostěnné, drobně tečkované nebo s jemnou šroubovicí. Libriformní vlákna mají hladké stěny, řídce tečkované. Dřeňové paprsky jedno i vícevrstevné, přes 1 mm vysoké, skládající se z buněk poměrně tlustostěnných, drobně tečkovaných, 10-25 buněk vysokých. Jádrové dřevo má stěny buněčné nažloutlé, někdy i červenohnědé a cévy v jádře jsou vyplněny homogenní červenohnědou hmotou.

Topol

Od dřeva vrbového rozeznáváme dřevo topolu okamžitě podle homogenních dřeňových paprsků, kterou jsou složeny jen z ležatých parenchymatických buněk, kdežto u vrby jsou dřeňové paprsky heterogenní. Kromě toho se vyskytuje u topolů bohatší tvorba thyll. V ostatní anatomická struktura dřeva topolu a vrby úplně stejná. Dřeňové paprsky jsou jednovrstevné, jen u topolu černého někdy dvouvrstevné. Tracheje jsou ve skupinkách po 2-3, zřídka po 7 v radiálních řadách. Dřevní vlákna mají velké lumen a nejsou tak tlustostěnná. Dřevní parenchym je málo vyvinut, jen v pozdním dřevě na hranici letokruhů. Jsou časté dřeňové skvrny.

Třešeň

Dřevo roztroušeně pórovité. Tracheje jsou ojedinělé nebo po 2-6 v radiálních skupinách s jednoduchou perforací, vyztužené kroužkovitými nebo šroubovicovitými lištami. Dřeňové paprsky jsou heterogenní, vícevrstevné, tu a tam i jednovrstevné, složené z tlustostěnných, na tangenciálním průřezu okrouhlých buněk. Tracheje jsou vláknité, se stěnou tečkovanou nebo vyztuženou jemnou šroubovicí. Tvoří rozmanité přechody k libriformním vláknům, jež mají hladké stěny. Dřevního parenchymu je velmi málo a je složen z buněk poměrně tlustostěnných, řídce tečkovaných. Stěny buněk v jádrovém dřevě jsou bezbarvé a cévy mají žlutavý obsah.

Vrba

Dřevo roztroušeně pórovité. Dřevo různých druhů vrby se vyznačuje trachejemi ojedinělými nebo ve skupinkách po 2-5 v radiální řadě seskupenými. Mají na podélných stěnách hustě roztroušené dvojtečky. perforace cév je jednoduchá. Typické jsou jednovrstevné dřeňové paprsky, na jejichž obvodu jsou stojaté buňky, dvakrát až čtyřikrát vyšší než střední

ležaté buňky. Je to tzv. heterogenní dřeňový paprsek. Stojaté buňky mají četné velké okrouhlé tečky, zvláště v místech, kde hraničí s cévami. libriform je hojný, složený ze širokých tlustostěnných vláknitých buněk s drobnými tečkami. Dřevní parenchym je málo vyvinut a to jen na hranici letokruhu v pozdním dřevě. Cévy v jádrovém dřevě neobsahují thyly.

Zimostráz

Dřevo roztroušeně pórovité. Tracheje jsou úzké, jednotlivé nebo párech, velmi četné, stejnoměrně v dřevě roztroušené, s mřížovitou perforací a drobnými řídkými dvojtečkami. Dřeňové paprsky jsou heterogenní, jedno až dvojrstevné, z tlustostěnných a řídko tečkovaných buněk. Náhradní vlákna a libriform chybějí. Velmi hojné jsou však vláknité tracheidy, jež libriform zastupují. Jsou tlustostěnné, široké a hojně dvojtečkované. Hojný dřevní parenchym tvoří příčné řady nebo skupiny kolem trachejí a skládá se z tenkostěnných buněk. Stěny všech buněk jsou žlutě zbarveny, parenchymatické buňky a tracheje mají žlutý až žlutohnědý, v alkoholu nerozpustný obsah.

2.5.3.2. Určování jehličnatých dřevin dle mikroskopické struktury

Borovice

Borové dřevo se vyznačuje četnými pryskyřičnými kanálky, jejichž sekretorické epiteliální buňky jsou tenkostěnné, v počtu zpravidla 4-5 na průřezu a obklopené pochvou z 8-10. rovněž poměrně tenkostěnných parenchymatických buněk. Vertikální pryskyřičné kanálky jsou nejčastěji jsou nejčastěji jednotlivé, četnější a větší než u smrku. Dřeňové paprsky jsou většinou jednovrstevné a složené z parenchymatických buněk a příčných tracheid. parenchymatické buňky jsou uprostřed dřeňového paprsku, jsou tenkostěnné a mají velmi nápadné široké tečky. Na stěnách sousedících s jarními tracheidami jsou tečky skoro obdélníkově hranaté, na stěnách šterbinovitý pórus. Jednovrstevné dřeňové paprsky jsou 1-12 buněk vysoké, vícevrstevné s pryskyřičnými kanálky obyčejně 20-25 buněk vysoké. V jádrovém dřevě bývají parenchymatické buňky dřeňových paprsků vyplněny pryskyřičnou hmotou. Na obvodu dřeňových paprsků probíhají souběžně s parenchymatickými buňkami příčné tracheidy (kolmo k podélným tracheidám letokruhu). Mají stěny hrboilatě ztloustlé, takže na radiálním řezu vypadají zubaté. počet příčných tracheid a parenchymatických buněk v dřeňovém paprsku bývá různý.

Cypřiš

Mikroskopicky připomíná dřevo jalovce, má však širší dřeňové paprsky (10-25 buněk nad sebou), místy dvouvrstevné, hojný dřevní parenchym se žlutými až červenohnědými lesklými inkluzemi.

Douglaska

Mikroskopicky se toto dřevo vyznačuje pryskyřičnými kanálky, zvláště hojnými v pozdním dřevě a jemnými šroubovicemi, jimiž jsou vyztuženy stěny jarních a většiny pozdních tracheid. Šroubovice jsou jemnější a probíhají vodrovněji než u tisu. Radiální stěny podélných tracheid mají jednu řadu, vzácněji dvě řady dvojteček. Na tangenciálních stěnách posledních řad pozdních tracheid jsou dvojtečky. Dřeňové paprsky jsou jednovrstevné a vícevrstevné, počet jednovrstevných převládá a vícevrstevné mají uprostřed pryskyřičný horizontální kanálek (na tangenciálním řezu). Dřeňové paprsky jsou doprovázeny na obvodu příčnými tracheidami s hladkými stěnami a s jemnou šroubovicí na vnitřních stěnách, parenchymatické buňky bývají často vyplněny pryskyřičnou hmotou. Vertikální pryskyřičné kanálky jsou na konci mladého dřeva a především ve starém dřevě.

Modřín

Mikroskopicky souhlasí modřínové dřevo téměř úplně dřevem smrkovým, takže se navzájem tato dřeva velmi špatně od sebe rozeznávají. Dřevo modřínové má obvykle dvojtečky na stěnách jarních tracheid drobnější a hojnější, velmi často jsou po dvou vedle sebe. Radiální průměr jarních tracheid je u modřínu vždy širší než u smrku, také buňky dřeňových paprsků modřínu jsou vždy vyšší než u smrku. Parenchymatické buňky v dřeňových paprscích jsou u modřínu v jaderném dřevě vyplněny oranžovou až červenohnědou pryskyřicí, kdežto u smrku jsou skoro vždy bez pryskyřice. Makroskopicky rozeznáváme modřínové dřevo od smrkového ihned podle význačně zbarveného jádra, jež u smrku nikdy není rozlišeno.

Jalovec

Dřevo má charakteristickou stavbu cypřišovitých dřev. Pryskyřičné kanálky nejsou ve dřevě vyvinuty. Dřeňové paprsky jsou vesměs jednovrstevné a složené pouze z parenchymatických buněk. Bývají úzké, složené obvykle ze 2-5, výjimečně až z 10 buněk nad sebou. Radiální stěny buněk dřeňových paprsků mají na styčných plochách s tracheidami drobné dvojtečky se šikmým, skulinovitým pórem, příčné stěny jsou buď úplně hladké, nebo jen s řídkými, drobnými jednoduchými tečkami. Uvnitř těchto buněk bývá žlutohnědý pryskyřičný obsah. Tracheidy jsou poměrně úzké, jejich stěny mají často spirálovité, hustě se křížující pruhování, jež nesmí být zaměněno se šroubovitými lištami, jako jsou u tisu nebo douglasky), zejména zřetelné v pozdním dřevu a nesou na radiálních stěnách ojedinělé

dvojtečky s pórem v jarním dřevě okrouhlým, v pozdním poněkud skulinovitým a šikmým. Mezi tracheidami bývá vklíněna místy řada vertikálních parenchymatické buněk. Tento dřevní parenchym je nejčastěji v pozdním dřevě letokruhů a jeho buňky obsahují četné kuličkovité, žluté nebo žlutohnědé, v jaderném dřevě často načervenalé inkluze, jež někdy splývají v podlouhlé zátky a černají chloridem železitým.

Jedle

Význačným znakem jedlového dřeva jsou chybějící pryskyřičné kanálky a typicky jednovrstevné dřevňové paprsky, jež se skládají pouze z parenchymatické buněk, jejichž stěny mají drobné dvojtečky s velkým šikmým vejčitým pórem. Jednovrstevnost dřevňových paprsků vyniká zvláště na řezu tangenciálním, kde dřevňové paprsky tvoří dlouhé, jednoduché řady, vysoké 15-40 parenchymatických buněk (nejčastěji nad 10). Tracheidy mají stěny hladké, poseté dosti hustě velikými dvojtečkami, na styčných stěnách s dřevňovými paprsky mají odpovídajících dvojtečky široké, šikmé póry, jinak jsou póry kruhové a přesně uprostřed. Pozdní tracheidy mívají úzké, štěrbinovité, zpravidla šikmé póry v dvojtečkách. Ve starých letokruzích uvnitř kamene obsahují buňky dřevňových paprsků čato krystalky štavelanu vápenatého, někdy žlutohnědý, jakoby pryskyřičný obsah. Dřevního parenchymu je velmi málo, pouze na vnější hranici pozdního dřeva.

Limba

Anatomická stavba limbového dřeva je vcelku stejná jako u sosnového dřeva a liší se hlavně tím, že příčné tracheidy mají stěny dokonale hladké s malými dvojtečkami, parenchymatické buňky jsou uprostřed dřevňového paprsku a mají na radiálních stěnách velké tečka. Rozdíl mezi jarními a pozdními tracheidami je poznenáhlá a nepatrný. jen na tangenciálních stěnách jsou hojné dvojtečky. Pryskyřičné kanálky jsou velké a četné. Buňky obsahují v jaderném dřevě často nažloutlou pryskyřici.

Smrk

Dřevo smrku se vyznačuje pryskyřičnými kanálky, které jsou zvláště dobře patrný na řezu transversálním (vertikální kanálky) a tangenciálním (horizontální kanálky). Vertikální pryskyřičné kanálky jsou dosti řídké a ponejvíce ojedinělé. Epiteliální buňky jsou drobné, tlustostěnné v počtu nejčastěji 10-12. Dřevňové paprsky jsou většinou jednovrstevné, méně vícevrstevné, složené uprostřed z parenchymu a na obvodu z příčných parenchymatických buněk. Chybí. některé tracheidy v pozdním dřevě jsou vyztužené jemnou šroubovicí.

Tis

Mikroskopicky se tis dá snadno určit podle nápadných šroubovic, které vyztužují podélné tracheidy. V časném i pozdním dřevě jsou stěny tracheid přibližně stejně tlusté.

Pryskyřičné kanálky chybějí a také vertikální pruhy dřevního parenchymu, jež doprovázejí u jiných jehličnanů pryskyřičné kanálky, nejsou vyvinuta, takže horizontální parenchym je pouze v dřeňových paprscích. Dřeňové paprsky jsou vesměs jednovrstevné a složeny pouze z parenchymatických buněk. Na styčných stěnách s tracheidami mají tyto buňky drobné dvojtečky se šikmým štěrbinovitým pórem. Dvojtečky na tracheidách jsou poměrně řídké, ale velké se štěrbinovitými, často zkříženými póry.

Vejmutovka

Mikroskopické zátky zcela souhlasí s anatomickou stavbou dřeva limby.

3. Technologie přípravy a výroby vzorků dřevin pro mikroskopické pozorování

3.1. Vzorek dřeva vhodný pro pozorování mikroskopem

Tato část diplomové práce je věnována přípravě trvalých mikroskopických preparátů dřeva. Technologie přípravy vzorků je velice rozmanitá a pro různé typy vzorků a metody pozorování volíme různé metody preparace. Požadované vlastnosti na zhotovený vzorek jsou většinou stejné, vzorek musí být věrný a dobře čitelný, obsahovat dostatek pozorovatelných objektů (více typů buněk), nesmí obsahovat jiné částice než hmotu dřeva, být dostatečně tenký aby ho prosvítlo světlo pozorovacího mikroskopu. Často jsou na preparát kladeny i další vlastnosti, například časová stálost barev, dostatečná barevnost atd. Disciplína která se věnuje mikroskopickým vlastnostem dřeva se nazývá xylogomie. Dřevo je velmi významný průmyslový materiál a jeho výzkum je tedy taktéž důležitý.

3.2. Základní metody mikroskopického zpracování vzorků dřeva

3.2.1. Schéma při zhotovování trvalého preparátu dřeva

Pokud nám pro pozorování vyhovuje přirozené zbarvení dřeva a není nutnost jeho zbarvení, tak pro zhotovení preparátů použijeme následující postup:

1. fixace
2. měkčení

3. řezání
4. uzavření do glycerolové želatiny
5. označování sklíček

Pokud přirozené zbarvení vzorků není pro pozorování dostatečně vhodné je notnost vzorky tzv. barvit. Barvené vzorky je nutné ochránit před blednutím, proto je zalíváme kanadským balzámem nebo damarovým lakem. Tyto média jsou nemísitelná s vodou, proto je nutné do postupu zpracování zařadit odvodňování vzorků. Pokud použijeme barviva která jsou rozpustná ve vodě, tak pro odvodňování použijeme etanolu. Vzorem vypíráme v etanolu s 50% koncentrací a koncentraci postupně zvyšujeme až na 95%. Pokud použijeme barviva rozpustná v etanolu, tak odvodňujeme hned 95% roztokem. Další možný prostředek je karbol-xylol, jde o kyselinu karbolovou (fenol) a xylool v poměru 1:3 a poté samotný xylool. V těchto případech je postup přípravy takovýto:

1. fixace
2. měkčení
3. řezání
4. bílení
5. barvení
6. odvodňování
7. uzavření do balzámu nebo laku
8. označování sklíček

3.3. Výběr a orientační řezy vzorků

Mikroskopickou strukturu dřeva pozorujeme ve třech základních rovinách, příčném, radiálním a tangenciálním. Orientace řezů vzhledem ke kmeni stromu je popsána v předchozí kapitole (základní řezy dřevem). V této kapitole se budeme věnovat výběru části dřeviny nejvhodnější k preparaci a přípravě řezů ve vzorku dřeva.

Pokud je to vzhledem k velikosti zkoumaného materiálu možné, tak pro každý řez zhotovíme jeden samostatný bloček. V tomto případě musíme vyrobit více bločků, ale tato nevýhoda je většinou převážena řadou výhod. Největší výhodou je možnost výběru nejvhodnější části dřeviny pro každý řez, v každém řezu můžeme sledovat jiný element struktury dřeva. Další výhodou je snazší upínání bločků do svorek mikrotomu, při uchycení na mikrotomu se totiž stěny za něj je vzorek uchycen mohou poškodit. Pokud máme k dispozici větší část dřeva je výběr řezů snazší. Pokud máme k dispozici jen malou část dřeviny je náš

výběr podstatně omezen. Pokud zhotovujeme orientační řezy jen z menšího kusu dřeva je nám vodítkem průběh letokruhů, letokruhy představují systém na sebe nasunutých válcových plášťů. Příčný řez vedeme kolmo k rovině kmene, radiální řez vedeme rovnoběžně s osou kmene a prochází středem kmene (dření), tangenciální řez vedeme v rovině rovnoběžné s osou kmene ovšem neprochází středem kmene (dření). Z dřevin ze kterých budeme vytvářet preparáty vyřežeme tedy malé hranolky, já jsem zvolil hranolky o rozměrech 10 × 10 × 30 mm. Plocha 10 × 10 mm je ta ze které následně na mikrotomu zhotovím vzorek pro pozorování, podle ní je tedy hranolek orientován. Rozměr plochy vzorku jsem volil zejména s ohledem na rozměry krycích skel (18×18mm) která budu používat. Hranolky jsem řezal ruční pilkou na dřevo,. Hranolky se neobrušují, při broušení by se do vzorku mohly dostat částice brusiva. Při výběru výřezu dbáme na to, aby ve výřezu (ploška 10 × 10 mm) byl pro pozorování kvalitní a transparentní vzorek. Například v příčném řezu je vhodné umístit přechod jarního a letního dřeva tak, aby byl dobře viditelný jeho přechod. U jehličnanů je dobré vést řez přes pryskyřičný kanálek. Větší vzorky nezhotovujeme vzhledem k limitům mikrotomu, prostupnosti nálevů atd. Proto je někdy nutné vytvořit více řezů v jedné pozorovací rovině. Při zhotovování preparátů tvrdých dřev (zejména v příčném řezu) se někdy nevede provést kvalitní řez celou plochou.

Jednotlivé bločky by měli mít u sebe co nejvíce informací které se k nim vztahují, nejen informace o druhu. Jsou-li nám známi údaje o stáří dřeviny, datu odběru, lokalitě odběru, části dřeviny z níž vzorek prochází (kmen nebo větev) atd., tak tyto ke vzorku připišeme.

3.4. Fixace

Poté co připravíme bločky vhodné pro pozorování přistoupíme k jejich fixaci. Vzorky dřeva je nejlépe zpracovávat čerstvá a nedopustit jejich vyschnutí. Pro fixaci použijeme některou z běžných fixací pro anatomické účely (jednotlivé fixace jsou popsány v následující kapitole), například FAA, FPA, Němcův bichromátchromformaldehyd nebo Carnoyovu směs. Pokud máme k dispozici vývěvu nebo vibrátor můžeme dobu nutnou pro fixaci zkrátit. Poté co fixáž ukončíme je nutná ze vzorku vypláchnout fixační činidlo. Pokud pracujeme ze vzorkem, který je mrtvý nebo vyschlý fixáž neprovádíme.

3.4.1. Volba vhodné fixáže

Volbu správné fixáže provádíme s ohledem na celou řadu faktorů. Rozhodujeme se na základě zejména těchto kritérií:

Celkové vlastnosti vzorku, jako jsou jeho rozměry, prostupnost vůči fixačnímu roztoku, charakter buněk objektu atd.

Účel pozorování pro které preparáty vytváříme. Například při anatomické studii vzorku dřeva není volba fixáže příliš důležitá. Pokud jde o cytologickou studii tak je výběr fixáže velmi důležitý. Pokud sledujeme jaderné dělení použijeme fixáž dávající kyselý obraz. Při studii plazmatických struktur (cytoplazma, chondriom, vakuom) použijeme fixáž dávající bazický obraz.

je nutné brát v potaz další zpracování vzorků, zejména barvení. Řada barvicích postupů je vázána na určitý druh fixačního nálevu, použijeme-li jinou fixaci, nedosáhneme správného výsledku. Například barvení safraninem poskytuje dobré výsledky, použijeme-li fixáž obsahující chromové ionty. Cajalova-Brožkovo barvení nedává výsledky pokud nepoužijeme fixáž dávající kyselý obraz. Takovýchto příkladů je celá řada a je proto nutno přistupovat k volbě fixace s rozmyslem.

3.4.2. Průběh fixace vzorku

Pro dosažení optimálních výsledků fixace a získání vzorků vhodných pro pozorování je nutné dodržet následující podmínky:

Fixační nálev musí být správně připraven. Snažíme se používat co nejčerstvější fixace, řada fixací časem rychle degraduje.

Hranolek jenž fixujeme má mít co nejmenší objem. Pokud má hranolek velké rozměry fixáž prostupuje vzorkem pomalu, podobný problém nastane i při vypírání fixace. Ze vzorku opatrně odstraníme nepotřebné části tkáně, fixace bude mít lepší přístup ke tkáni jenž se snažíme preparovat.

Vzorek jenž fixujeme uchováváme a přenášíme tak, aby nedošlo k jeho poškození, nebo znečištění. Vhodné jsou plastové sáčky s možností uzavření. Uzavřením zároveň zabráníme vysychání vzorků.

Je důležité použít dostatečné množství fixačního roztoku. Objem fixáže by měl být 50-100 × větší oproti fixovanému vzorku. Při fixaci preparátů dochází ke zředění fixačního roztoku. Tento proces zmírňujeme požitím dostatečného množství roztoku. Pro rychlejší a dokonalejší působení fixace je dobré roztok promíchávat. Takto docílíme i rovnoměrnějšího působení fixace. Dobré je použít elektromagnetickou míchačku nebo vibrátor. Pokud obsahuje pletivo vzorku v intercelulárách vzduch, je dobré použít vzduchové vývěvy.

Fixaci je nejvhodnější provádět v uzavřených nádobách, vhodné jsou nádoby vyrobené ze skla. Nádoby vyrobené ze skla nevyklučují do fixáže žádné cizí látky, které by mohly ovlivnit vlastnosti vzorku.

Při fixáži je důležité zamezit záměně jednotlivých vzorků. Vzhledem k tomu, že často pracujeme s větším množstvím vzorků je nutné zamezit záměně dokonalým systémem značení. Způsobů značení je celá řada, záleží na každém jaký způsob zvolí. Jedním z nejjednodušších způsobů je vložit do fixace lístek s údaji o vzorcích. Lístek můžeme vytvořit z obyčejného tužšího papíru a popis provést obyčejnou tužkou.

3.4.3. Délka doby fixace

Stanovit optimální délku fixace je často složitým úkolem. Pro správné provedení fixace je její délka velmi podstatná. Okolností na nichž záleží správné stanovení délky fixace je celá řada. Pokud nemáme dostatek zkušeností musíme se spolehnout na informace uvedené v předpisu pro daný fixační nálev a po několika pokusech dobu přizpůsobíme našim specifickým podmínkám. Hlavní faktory na nichž závisí doba fixace jsou, typ použitého roztoku, teplota při níž fixace probíhá, velikost objektu, propustnost preparátu pro jednotlivé složky fixační směsi. Jednotlivé složky fixace nemusejí do preparátu vnikat stejně rychle. Problém nastává i u vzorků větších rozměrů, v první fázi totiž prostupuje fixační roztok preparátem rychleji a do vnitřních vrstev vzorku se dostává ztelně pomaleji. Tento efekt způsobí přefixování vrchních vrstev a nedostatečnou fixaci vnitřních tkání preparátu. Tento škodlivý efekt prakticky odstraníme volbou menších rozměrů preparátu. Podstatně se na době fixace podílí případné použití elektromagnetické míchačky, vibrátoru nebo jiného způsobu míchání. Mícháním se k objektu dostává čistá směs a průběh procesu fixace se tímto urychluje.

3.4.4. Vypírání fixace z preparovaného objektu

Po dokončení fixace je často nutné zbavit preparát zbytků fixačního činidla, to by totiž mohlo negativně ovlivnit následující proces barvení. Zbytky fixace můžeme odstranit intenzivním vyplachováním proudící vodou, nebo můžeme použít jiné roztoky. Pro různé druhy fixačních roztoků je jejich vypírání ze vzorků různé a používá se k tomu různých roztoků. To jak vypírat fixaci ze vzorků a jaký roztok použít je uvedeno v předpisech pro jednotlivé fixační roztoky. Fixáže sublimátové, etanolové a s obsahem kyseliny pikrové vypíráme z objektu většinou několikrát vyměněným etanolem nižší koncentrace. Délka vypírání fixačního roztoku z preparátu je podmíněna celou řadou faktorů, většina z nich je podobná jako při volbě délky fixace. Pro usnadnění a urychlení procesu vypírání zbytků fixace z preparátu lze použít i řadu mechanických zařízení k tomu určených. Zařízení lze rozdělit do dvou skupin, u první skupiny je k vyplachování používáno proudící kapaliny a u ostatních je starý roztok vyměňován za nový.

3.4.5. Fixace chemickými činidly

Na začátek této kapitoly je též nutno uvést základy zásad bezpečnosti práce z chemickými látkami a kyselinami.

3.4.5.1. Zásady bezpečnosti práce

Pravidla pro práci s chemikáliemi:

Při práci se zdraví škodlivými látkami používáme ochranné pracovní pomůcky, a to zejména gumové rukavice, ochranné brýle nebo štít, pracovní plášť, je-li to nutné tak použijeme i další prostředky k ochraně zdraví

Při práci s chemikáliemi nejíme, nepijeme ani nekouříme

Pracujeme pouze v dostatečně větraných prostorech

Dbáme na to, aby se chemikálie nedostala do styku s pokožkou, sliznicí, dýchacími orgány a zaživačím ústrojím

Manipulaci provádíme vždy s rozvahou a s ohledem na ostatní pracovníky

Kyselinu ředíme tak, že ji lijeme do vody, nikoliv obráceně

Pokud trochu kyseliny rozlijeme, tak kyselinu naředíme vodou a neutralizujeme, například uhličitanem sodným nebo amoniakem, potom utřeme hadrem

3.4.5.2. První pomoc při úrazech

Při poleptání a popálení pokožky chemikáliemi může dojít k rozsáhlému poranění pokožky. K poleptání dochází tak, že kyselina odnímá z tkáně pokožky vodu a koaguluje bílkoviny, to se projevuje tuhými, ostře ohraničenými příškvarky.

Pokud dojde ke styku kyseliny s pokožkou zahájíme okamžitě oplachování zasaženého místa pokud možno tekoucí vlažnou vodou. Poté poleptanou pokožku oplachujeme 2% roztokem kyselého uhličitanu sodného, ten kyselinu zneutralizuje a tím odstraníme její leptající účinek. Pokud dojde k polížení oděvu je nutné oděv okamžitě odložit a to ještě před provedením opláchnutí a neutralizace daného místa.

Pokud dojde k zasažení očí kyselinou je nutné ihned začít vyplachování proudem vlažné vody, ve vyplachování pokračujeme nejméně 10 až 15 minut. Vyplachování proudem vody je mnohem důležitější než použití neutralizačního prostředku. Pokud dojde k zasažení oka je vždy nutné vyhledat lékaře.

Pokud dojde k požití kyseliny je nutné provést neutralizaci pomocí neutralizačního roztoku, vhodné je například dostatečné množství suspenze oxidu hořečnatého v ledové vodě. Poté je nutné ihned vyvolat zvracení. Pokud by se vyvolalo zvracení před neutralizací mohlo by dojít k poleptání hrtanu.

3.4.5.3. Druhy fixází

Je celá řada chemikálií, které koagulují plazmu, ovšem pouze některé z nich vyhovují vlastnostem potřebným pro fixáž. Většinou je tedy nutné namíchat potřebnou směs. Ovšem některá činidla lze použít samostatně, jde například o formaldehyd, kyselinu octovou, kysličník osmičelý a jod.

Na začátek této kapitoly je též nutno uvést základy zásad bezpečnosti práce z chemickými látkami a kyselinami.

3.4.5.3.1. Formaldehyd

Formaldehyd se prodává pod prodejním názvem “formalín“, tento roztok je 40%. Pokud je nutno koncentraci ověřit je to možné, kontrolu provedeme titračně. Roztok formaldehydu většinou obsahuje stopy kyseliny mravenčí. Množství kyseliny mravenčí v roztoku je větší zejména pokud je skladována na světle. Kyselina mravenčí rozrušuje chondriom, a proto je takový roztok nevhodný. Proto je nutné přechovávat roztok formaldehydu ve tmě a v lahvi z tmavého skla, dále je možno na dno umístit vrstvu práškovitého uhličitanu vápenatého. Při polymerizaci formaldehydu vzniká u dna bělavá sedlina, tu lze odstranit ponecháním roztoku v termostatu při teplotě okolo 80°C po delší dobu.

Při fixaci objektů formaldehydem je třeba dodržovat takovouto koncentraci, menší objekty fixujeme 3 až 4% roztokem formaldehydu, větší a méně choulostivé 5 až 7% roztokem. Při cytologických fixázích záleží na reakci formaldehydu, proto často místo neutralizovaného formaldehydu použijeme vypufrovaný formaldehyd na žádoucí pH. Pufrování se provádí fosfátovým pufrem.

3.4.5.3.2. FPA (formaldehyd-propiono-etanol)

50% nebo 70% etanol 90 ml

kyselina propionová 5 ml

40% neutralizovaný formaldehyd 5 ml

délka fixace: 6 hodin a více, ve fixáži je možno objekty přechovávat

vypírání: 12 hodin v proudící vodě nebo v ethanolu

použití: velmi vhodné pro anatomické preparáty, fixuje však i cytologické preparáty mnohem lépe než formaldehyd-aceto-etanol

3.4.5.3.2. FAA (formaldehyd-aceto-etanol)

50% nebo 70% etanol 90 ml

kyselina octová 5 ml

40% formaldehyd 5 ml

délka fixace: 6 až 12 hodin, je možno vzorky v roztoku přechovávat

vypírání: proudící vodou nebo 50% (70%) etanolem

použití: je vhodný zejména pro anatomické preparáty, pro hrubší práci má využití i v cytologii, škrob a cytoplazma jsou fixovány velmi špatně, zato chromozómy poměrně dobře, barvitelnost preparátů je velmi dobrá

3.4.5.3.3. Carnoyova atano-chloroform-octová fixáž

Fixáž, jejíž hlavní složkou je etanol

100% etanol 60 ml

chloroform 30 ml

ledová kyselina octová 10 ml

dálka fixace: 30 minut až 5 hodin

Použití: roztok je vhodný pro fixaci těžko prostupných objektů, nebo když potřebujeme rychlou fixaci, roztok fixuje dobře pouze chromatinové struktury, je vhodný pro Feulgenovu reakci.

3.4.5.3.4. Němcova bichromato-chrom-formaldehydová fixáž

Fixáž jejíž hlavní složkou je chrom v různých sloučeninách.

1% až 3% vodný roztok $K_2Cr_2O_7$ 50 ml

1% vodný roztok CrO_3 50 ml

formaldehyd 40%, neutralizovaný,

přidáme těsně před použitím 8ml

délka fixace: 24 až 48 hodin, fixační roztok se během fixace několikrát vymění za čerstvý

vypírání: v proudící vodovodní vodě 6 až 8 hodin

použití: můžeme fixovat všechny objekty, fixáž zachovává výborně plazmatické struktury

3.4.5.4. Odvodňování preparátů vypraných z fixáže

Pro další zpracování preparátů je nutné jejich dokonalé odvodnění, pokud by se vzorky zpracovávaly v neodvodněném stavu, tak by nedošlo k dokonalému zalití do parafínu. Neodvodněné vzorky by se po zalití do parafínu zakalili, parafín by dokonale neprostoupil do vzorku a řezy by nebylo možno provést v dostatečné kvalitě.

Pro odvodnění preparátů je možné použít celou řadu odvodňovacích roztoků, vzorek máme postupně v roztocích se zvyšující se koncentrací. Tento postup nám zaručuje, že během odvodňování vzorku nedojde k deformaci pletiv ani buněčných struktur. Jsou i odvodňovací média která jsou zároveň rozpouštědlem parafínu, tyto média přispívají k projasnění zpracovávaného vzorku. Tuto vlastnost mají například roztoky jako butanol, isobutanol, dioxan. Pro dosažení dokonalého odvodnění vzorku je nutno ho ponechat dostatečně dlouhou dobu v každém stupni odvodňovací řady. Doba po níž dochází k odvodnění vzorku je závislá na celé řadě faktorů, mění se zejména podle použitého dehydratačního činidla a propustnosti a velikosti preparovaného objektu. Doba odvodňování je zároveň možné ovlivnit teplotou odvodňovacího roztoku, nebo použitím vibračního míchadla. Doba po kterou ponecháváme vzorky v jednotlivých stupních dehydratačního roztoku jsou uvedeny v pracovních postupech pro jednotlivé nálevy. Tyto doby je vhodné přizpůsobit našim specifickým podmínkám, a to podle toho jaké výsledky získáme při odvodňování prvních vzorků. Experimentálně získané časy pak dodržujeme i u ostatních vzorků. Pokud je třeba dobu odvodňování preparátů zkrátit na minimum, pak zrychlíme přístup dehydratačního činidla ke tkáni použitím míchačky nebo vibrátoru. Dokonalé odvodnění závisí i na posledních dvou stupních řady dehydratačního média. Poslední roztok by měl mít 100% koncentraci, ta je však narušována zbytky vody uvolňujícími se ze vzorku, proto je vhodné do dehydratačního roztoku vložit textilní sáček s odvodněným síranem měďnatým, jeho nasycení vodou nám indikuje jeho modrá zbarvení. Po dokončení tohoto postupu dosáhneme dokonalého odvodnění připravovaných preparátů. Existují i technické přístroje které dokáží zajistit plynulou výměnu dehydratačního roztoku a tím i postupnou změnu jeho koncentrace. Takovýmito přístroji bývají však vybaveny jen vysoce specializované laboratoře.

3.5. Měkčení preparovaných vzorků

Pro dosažení co nejdokonalejšího a nejtenčího řezu je nutno vzorek před řezáním změkčit. Postupů měkčení je celá řada, volba závisí na povaze měkčeného preparátu. Nejlépe je měkčit materiál co možno nejčerstvější. Pro měkčení preparovaných vzorků dřevin lze použít těchto způsobů:

Nejzákladnějším, nejjednodušším a často dostatečným způsobem měkčení je povaření vzorků ve vodě. Tímto způsobem se zároveň zbavíme malých bublinek vzduchu obsažených ve vzorku. To že je vzorek zbaven bublinek poznáme podle toho, že vařené vzorky klesnou ke

dnu nádoby v níž jsou vařeny. Lepších výsledků dosahujeme pokud vařené vzorky přeneseme z horké do studené vody a tento postup několikrát opakujeme. Délka po kterou je nutné vzorky vařit se odvíjí hlavně od tvrdosti zpracovávaných vzorků dřevin (větší tvrdost znamená delší vaření), většinou postačí přibližně jedna hodina. Pokud zpracováváme čerstvá a měkká dřeva je tento způsob zpravidla dostačující. Pokud nám tato metoda neposkytla dostatečných výsledků, tak je nutno použít některý z dále uvedených postupů.

Pro tvrdší dřeva je výhodné povaření preparovaných vzorků ve 2 – 4% roztoku NaOH nebo KOH.

Pro měkčení preparátů lze též úspěšně použít směs glycerol-etanolu (nejvhodnější je glycerol a 30% etanol v poměru 1:1). V tomto roztoku můžeme ponechat preparáty neomezeně dlouhou dobu. Tuto metodu je u tvrdších dřevin vhodné kombinovat z metodou vaření, jenž je popsána v první odrážce.

Další možností je tzv. Kraselův způsob měkčení. Bločky dřeva dáme do 10% etanolického roztoku kyseliny karbolové (fenolu), proces měkčení probíhá řádově hodiny až týden (záleží na vlastnostech vzorku). Tento roztok je možno použít i u fosilních vzorků.

Měkčení vzorků dřeva podle G. L. Franklina. Preparáty měkčíme vařením ve směsi ledové kyseliny octové a 30% peroxidu vodíku v poměru 1:1. Vaření provádíme v uzavřené nádobě se zpětným chladičem. Doba po kterou je nutno vzorky vařit je opět závislá na vlastnostech zpracovávaného vzorku. Tento způsob měkčení je poměrně rychlý, tvrdé vzorky měkčíme 1,5 – 2 hodiny u vzorků měkkých dřevin postačuje pro vaření obvykle čas kratší než jedna hodina. Při příliš dlouhém vaření dochází k maceraci. Tato metoda je vhodná i pro vzorky impregnované pryskyřicemi. Po dokončení procesu měkčení následuje důkladné měkčení.

Předchozí metodu lze vylepšit, tak jak učinily J. a Z. Pouzarovy. Vzorky vaříme několik hodin ve směsi jednoho dílu ledové kyseliny octové, dvou dílů 30% peroxidu vodíku a třech dílů vody. Tato metoda je ke zpracovávaným vzorkům šetrnější než původní roztok.

Měkčení vzorků pomocí roztoku kyseliny fluorovodíkové. Tento způsob měkčení provádíme po předchozím měkčení povařením ve vodě. Preparáty vložíme do skleněné nádoby, která má plochu vnitřních stěn potaženou parafínem a zalijeme je kyselinou fluorovodíkovou. Koncentrace kyseliny a doba měkčení jsou rozdílné pro dřeviny různých tvrdostí. Vzorky tvrdých dřevin měkčíme v koncentrované kyselině, pro měkčení měkkých dřevin použijeme přibližně 20% roztok kyseliny fluorovodíkové. Kyselina fluorovodíková rozpouští holocelulózy buněčných blan a tím dochází k měkčení tkáně vzorku.

Měkčení pomocí acetátu celulózy (metoda podle H. S. Williamse). Tento postup aplikujeme po předchozím povaření ve vodě, vzorky poté ponecháme nějakou dobu v acetonu a poté je přeneseme do 12% roztoku acetátu celulózy v čistém acetonu. Měkčení provádíme po dobu 3 až 7 dnů (doba opět závisí zejména na vlastnostech preparátů). Po dokončení procesu měkčení proplachujeme vzorky v acetonu a etanolu. Výhodou této metody měkčení je možnost přechování vzorků v roztoku glycerolu a etanolu po delší dobu a možnost pozdějšího zpracování.

3.6. Práce s mikrotomem

Po dokončení procesů fixace a měkčení je nutno vzorek dřeva nařezat na tenké plátky, které bude možno pozorovat v mikroskopu. Měkčené hranolky dřeva můžeme většinou řezat bez použití metody zalévání vzorků do parafinových bločků. Zařízení sloužící ke zhotovování velmi tenkých řezů nazýváme mikrotom. Mikrotomy se vyrábějí v mnoha provedeních, od téměř univerzálních, až po úzce účelově specializované přístroje. Vhodnost použití jednotlivých druhů mikrotomů záleží na vlastnostech řezaného preparátu, způsobu předchozího zpracování a na požadavcích kladených na výsledné vzorky. Při výběru druhu mikrotomu je pro nás často limitujícím faktorem vybavení laboratoře v níž pracujeme a to zejména pro vyšší cenu specializovaných mikrotomů.

Někteří výrobci mikrotomů mají ve své nabídce speciální typy přístrojů určených pro řezání vzorků dřevní tkáně. Například vídeňská firma Reichert vyrábí takzvaný Kisserův mikrotom na dřevo, ten je vybaven speciálním zařízením na vyvíjení a přívod vodní páry přímo k zpracovávanému vzorku. Tento druh mikrotomů získal jméno podle J. Kissera, který doporučoval vzorky před řezáním nechat změkčit působením vodní páry (tento způsob měkčení dřeva se používá i při průmyslové výrobě, např. dřevěných židlí). Společnost Leitz Wetzlar zase vyvinula takzvaný Durotom, tento mikrotom je přednostně určen pro řezání tvrdších materiálů. Pro tvrdší materiály je též určen Jungův mikrotom. Tyto přístroje se od běžných mikrotomů liší zejména mohutnější a stabilnější konstrukcí.

Pro dokonalou práci na mikrotomu je důležité zvolit správný typ nože. Pro řezání tvrdých objektů je vhodné použít nože s kýlovitým ostřím. Pro řezání preparátů dřeva volíme kvalitní nože, které jsou dokonale ostré. Zejména v příčných řezech (v tomto směru tkáň dřeva klade noži největší odpor) stavíme nůž co nejšikměji, ostří nože naklááme tak, abychom řezy jakoby hoblovaly. Při zhotovování příčných řezů je též výhodné nastavit ostří nože kolmo, nebo téměř kolmo k hranicím letokruhů, tímto docílíme řezání letního i zimního

letokruhu současně. Při řezání podélných řezů je naopak vhodné orientovat ostří nože rovnoběžně s tkání dřeva, spodní strana nože přitom leží skoro v rovině vytvářeného řezu.

Poté co upevníme vzorky do mikrotomu, provedeme několik řezů za účelem zarovnání roviny řezu. Ze vzorku odkrojíme několik tenkých plátků, z nich poté vybereme nejvhodnější (měl by být co nejtenčí a po celé své ploše stejnoměrně silný). Tloušťka řezů se obvykle pohybuje v rozmezí 10 - 20 μ . Tloušťka řezu je závislá na průměru elementů dřevní tkáně, její vhodnost se kontroluje pomocí mikroskopu. Tenké řezy se nám nedaří hlavně při zhotovování podélných řezů u dřevin se šikmými cévami, řezy nedrží pohromadě. Objekty během řezání průběžně vlhčíme, osvědčená je směs glycerol-ethanolu, kterou jsme používali i k měkčení vzorků. Nejvhodnější řezy přenášíme do nádoby s vodou, pokud je nebudeme okamžitě zpracovávat, tak volíme glycerol-etanol. Tímto způsobem si můžeme připravit větší množství řezů pro následovné zpracování. Manipulaci se vzorky provádíme pomocí pinzety nebo štětečku.

Pokud se nám zhotovení řezu (zejména příčného) nedaří, cévy se trhají a menší elementy se deformují, můžeme použít metodu parafínových bločků. Odvodněné a změkčené špalíčky zalijeme do parafínu nebo celoidinu a poté provedeme požadované řezy. Je možno použít metody měkčení tvrdých pletiv až po zalití do parafínu.

3.6.1. Řezání objektů zalitých do parafínových bločků

Techniky zalévání preparátů do parafínových bločků za účelem řezání na mikrotomu se využívá i v jiných oborech než je cytologie. Pro tento účel se vyrábí množství mikrotomů různých značek, dle konstrukce lze tyto přístroje rozdělit na dva základní typy, mikrotom sáňkový a mikrotom rotační. Technická složitost jednotlivých přístrojů je různá, avšak základní princip je vždy podobný. Objekt upneme do upínacího mechanismu mikrotomu, posunem páky, nebo otočením kola je špalíček posunut o předem nastavený počet mikrometrů nad rovinu řezu. Následným posunutí páky, nebo otočením kola nůž mikrotomu odřízne ze vzorku tenký plátek. U sáňkového mikrotomu se pohybuje nůž, u rotačního mikrotomu se posouvá bloček vůči noži. V dalším textu zmíním postup práce s jednotlivými druhy mikrotomů a několik informací k mikrotomovým nožům. Popis práce na jednotlivých mikrotomech bude popsán pouze orientačně, přístroje jednotlivých výrobců se mohou konstrukčně odlišovat. Pro kvalitní práci s mikrotomem je třeba prostudovat návod k obsluze pro konkrétní používaný přístroj.

3.6.2. Sáňkový mikrotom

Mikrotom je zkonstruován tak, že nůž je upevněn v pojezdu, který se pohybuje po přesně opracované ploše podstavce. Objekt se uchycuje do takzvané neapolské svorky, ta umožňuje nastavení objektu do vhodné polohy. Nastavení objektu provádíme pomocí šroubů, nebo pomocí kloubové hlavice. Objekt uchycený ve svorce je automaticky pohybem nože vysouván nad spodní rovinu mikrotomového nože, tento pohyb je zajištěn mikrometrickým šroubem kombinovaným se šikmou rovinou. Velikost posunutí je totožná s tloušťkou řezaných plátků.

3.6.3. Postup práce na sáňkovém mikrotomu

Do úchyty upevníme mikrotomový nůž. Nůž nastavíme kolmo ke svému posuvu a rovnoběžně s rovinou posuvu. V této poloze nůž zafixujeme pomocí dotažením šroubů.

Seřídíme sklon roviny nože k rovině řezu. Obvykle se sklon volí mezi 5 až 10°, ovšem záleží na vlastnostech řezaného materiálu a na kvalitě ostří nože. Nevhodnější nastavení sklonu nože k řezné rovině je většinou nutno zjistit experimentálně.

Špalíček s přichyceným a seříznutým bločkem upevníme do svorky, objekt natočíme do požadované polohy a natáčecí mechanismus aretujeme.

Na zarážce nastavíme potřebnou tloušťku řezů (vertikální posunutí objektu při každém řezu).

Pomocným makrometrickým šroubem posuneme bloček těsně pod ostří nože. Tuto polohu překontrolujeme přiblížením nože.

Je-li to zapotřebí, poopravíme hrany bločku, aby byly rovnoběžné s řeznou rovinou nože.

Jednou rukou uchopíme rukojeť na jezdcí (nebo páku) a svižným pohybem přejedeme nožem přes objekt. Druhou rukou přidržujeme mikrotom, aby se neposunoval po pracovním stole. Tento postup opakujeme až do té doby, kdy seřízneme první plátky z objektu. První nařezané plátky jsou zpravidla nekvalitní, proto je odstraňujeme.

Poté co odstraníme první vrstvu objektu, jsou řezy kvalitnější. Kontrolujeme zejména celistvost a tloušťku nařezaných plátků. Případné nedostatky odstraňujeme zejména nastavením sklonu nože, nastavením tloušťky řezaných plátků a volbou rychlosti řezného nože. Kvalita vzorků záleží do jisté míry na zkušenostech a pečlivosti obsluhy mikrotomu.

Poté co nařežeme dostatečný počet řezů, nebo poté co se řezy na nosiči příliš navrstvily, opatrně přeneseme plátky navlhčeným štětečkem na hladký černý papír, nebo fólii s teflonovým povrchem. Pokud je třeba řežeme další řezy. Pásky na sáňkovém mikrotomu neřežeme zbytečně dlouhé, neboť navrstvením nařezaných plátků na noži dochází k poškození řezů. Pásky přenášíme a skládáme na podložku tak, aby byly zachovány série za sebou jdoucích řezů.

Vybereme nejkvalitnější řezy a přeneseme je na podložní sklíčka, nebo je můžeme přilepené na fólii uchovat pro další zpracování.

3.6.4. Postup práce na rotačním mikrotomu

Do mikrotomu vložíme nůž a opneme ho do držáku. Pomocnými šrouby nastavíme sklon nože v rozmezí 5 až 10°.

Mechanismus svorky vysuneme pomocí kola mikrotomu nahoru. Kolo mikrotomu je nutno zajistit, během upevňování objektu by mohla dojít k najetí objektu na nůž. Do svorky upevníme bloček a nastavíme ho tak, aby delší hrany byly rovnoběžná s nožem mikrotomu.

Svorku s upnutým objektem posuneme tak, aby horní hrana řezaného objektu byla těsně pod ostří mikrotomového nože.

Nastavíme tloušťku řezaných plátků, obvykle volíme tloušťku v rozpětí 10 - 20 μ .

Odjistíme svorku z horní polohy a pomocí kola mikrotomu ji pomalu ji spustíme dolů. Nůž by se neměl dotknout objektu.

Na nůž připevníme posun parafínové pásky, polohu volíme s ohledem na vlastnosti a velikost řezaného vzorku.

Jednou rukou otáčíme kolem mikrotomu, svorka i s objektem se začne pohybovat nahoru a dolu proti ostří mikrotomového nože. Při každém otočení kola nůž ze vzorku odkrojí jeden plátek, který se s předchozím spojí v pásku. Druhou rukou (většinou levou) obsluhujeme páskový transportér. Páska by měla být stále trochu napnutá, ale ne tolik, aby se začala trhat. Správného napínání pásky docílíme většinou až po dostatečném nacvičení ovládání mikrotomu. Pokud páska není kvalitní (kroučí se, nebo se trhá) je nutno upravit tloušťku řezů, sklon nože, nebo řeznou rychlost.

Poté co vytvoříme dostatečně dlouhou pásku, nebo se dostaneme s objektem na konec posuvu, odřízneme pásku kousek za nožem a přeneseme ji na papír nebo fólii.

Pásku rozřežeme a přeneseme na podložní sklíčko.

3.6.5. Mikrotomový nůž

Kvalitní a dokonale ostrý mikrotomový nůž je nezbytný pro vytvoření řezů výborné kvality. Pokud nejsou nařezané plátky dostatečně kvalitní, nebo se trhají, můžeme vyzkoušet jiný mikrotomový nůž. Ostří nože je vybroušeno do jemných fasetek. K ostří se chováme velmi opatrně, nepoužíváme je k jiným účelům, než ke kterým je určeno. Mikrotomový nůž po ukončení práce důkladně očistíme a pokud jej nebudeme delší dobu používat, tak jej i naimpregnujeme. Nůž uchováváme ve speciálním pouzdře, z něhož ho vyjmeme těsně před započetím řezání a po ukončení práce jej zase okamžitě ho pouzdra uložíme.

3.6.6. Broušení a obtahování mikrotomového nože

Ostří mikrotomového nože je tvořeno fasetkami, které svírají určité úhly. Nůž upneme do speciálního nástavce a seřídíme sklon nože vůči obtahovacímu řemeni. Sklon postupně měníme tak, jak obtahujeme jednotlivé fasetky. Pokud tento speciální přípraven nemáme k dispozici je vhodné broušení mikrotomových nožů svěřit specialistovi.

Po každém řezání mikrotomový nůž důkladně očistíme od zbytků řezané tkáně a parafínu a poté jej obtáhneme na pevném obtahovacím řemeni. Obtahovací řemen, který je většinou vyroben z přírodní kůže, chráníme před prachem a jinými nečistotami. Řemen občas trochu potřeme jemnou obtahovací pastou.

Nože jenž nelze pro velké opotřebení a nebo poškození dokonale nabrousit vyřadíme. Tyto nože je možno dále používat k jiným účelům, například v patologii.

3.5.7. Tvary mikrotomových nožů

Tvar nože volíme podle typu mikrotomu a podle charakteru řezaného objektu. Pro naše účely (parafínové bločky, nebo kvádříky měkčených dřevin) postačí nůž s rovným ostřím, pro vzorky zalité v celuloidinu je též možno použít nože s obloukovitým ostřím. Dále se nože dělí podle příčného průřezu, vhodnost použití nože zjistíme z přiložené dokumentace a nebo experimentálně.

3.6.8. Sklon nože při řezání

Sklonem nože rozumíme úhel který svírá spodní plocha nože vůči řezné rovině. U parafinových bločků volíme sklon v rozmezí 5 až 12°, pro celuloidinové bločky nastavujeme úhel až 15°. Z nastavením sklonu nože experimentujeme a hledáme nejvhodnější úhel. Nesmíme zapomenout, že dřevo není homogenní materiál a různých řezech má odlišnou tvrdost.

3.6.9. Nastavení nože vzhledem k jeho pohybu

Pro řezání vzorků zalitých v parafínu nastavíme ostří nože kolmo ke směru posunu nože. Nůž tenké plátky materiálu jakoby odsekává. Pokud řezeme vzorky zalité v celuloidinu, tak nastavíme úhel nože co největší, aby byl objekt nožem jakoby řezán. V tomto případě by měl nůž řezat vzorek celou délkou ostří.

3.7. Bílení řezu

Většina dřev je zbarvena přirozeně. V některých případech může toto zbarvení nahradit zbarvení umělé, ale mnohdy může narušovat dosažení žádaného výsledku. Jde-li nám jen o charakter buněčných blan a ne o obsah buněk, snažíme se tento obsah odstranit. Jak k bílení řezů, tak k odstraňování buněčného obsahu používáme jevelské vody. Tento roztok připravíme taktu: 3 g chlorečnanu draselného, 25 ml destilované vody a 6 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Roztok mírně zahříváme. Chlorečnan draselný se rozkládá za vývoje chloru. Roztok se zbarvuje žlutě. K roztoku přimícháme za chlazení vodou studený roztok 5 g hydroxidu draselného v 30 ml destilované vody. Žlutý roztok se odbarví a na dně nádoby začne po chvíli krystalizovat chlorid draselný. Roztok opatrně slijeme a můžeme ho okamžitě upotřebit. Při přípravě je nutno dávat pozor na vylučující se chlor.

Řezy z glycerol-ethanolu promyjeme vodou a opatrně ohříváme ve zkumavce v několika ml čerstvé jevelské vody, až přivedeme tekutinu do varu. Řezy v ní pak necháme ještě 5-10 minut, abychom dosáhly úplného vybělení a odstranění obsahu buněk. Potom řezy zbavíme chloru, nejprve 1-2% kyselinou octovou, pak důkladným promytím v destilované vodě.

Je důležité bílení nepřetáhnout, zvláště chceme-li řezy použít k zjišťování barevných reakcí na dřevo. V takovém případě stačí působení jevelské vody po několik minut za studena, jinak je reakce na lignin v důsledku oxidace molekuly ligninu zeslabena.

3.8. Barvení řezu

Někdy je naopak pro pozorování řezů výhodné jejich barvení. Způsobů barvení je celá řada. Jedná se o jednoduché i složitější procesy které zde nebudu rozepisovat.

3.9 Odvodňování vzorků

Pro odvodňování používáme dvě skupiny látek. Jedna skupina (etanol, aceton, glycerol apod.) obsahuje látky mísitelné s vodou, ale nerozpouští parafin. Další skupina (n-butol, isobutanol, , dioxan apod.) obsahuje látky mísitelné s vodou, alespoň částečně, které jsou rozpouštědly parafínu.

3.10. Uzavírání vzorku

Pro pozorování vzorku mikroskopickou metodou je nutné jeho uzavření do podložního skla. Pro jednorázové pozorování je většinou dostatečné zakápnutí preparovaného vzorku kapkou vody a překrytí krycím sklíčkem.

Pokud vzorky uchováváme pro opakované pozorování, tak fixujeme krycí sklíčka speciálními roztoky. Je možno použít například glycerolovou želatinu, kanadský balzám, nebo damarový lak.

3.11. Popisování sklíček

Pro nezaměnitelnost vytvořených preparátů je vhodné jejich popsání. Pokud jde o jednorázové vzorky může dostačovat jejich popsání odolným popisovačem. V případě častěji používaných vzorků je dobré použít popisové štítky. Velmi odolné je vyrytí označení štítku jehlou do podložního skla.

3.12. Použité metody při zhotovování preparátů

Nasbírané vzorky dřevin jsem nařezal na kvádříky o hranách přibližně 12*12*40mm tak, aby požadovaný řez byl orientován na stěnu 12*12mm. Z každé dřeviny jsem vyřezal tři kvádříky pro zhotovení příčného, radiálního a tangenciálního řezu.

Pro fixaci jsem použil formaldehyd-propino-etanol. Roztok měl toto složení:

50% nebo 70% etanol	90 ml
kyselina propionová	5 ml
40% neutralizovaný formaldehyd	5 ml

Délka fixace byla větší než 6 hodin. Výhodou této fixáže byla možnost objekty v tomto roztoku přechovávat a možnost vyprání fixáže ze vzorku vodou. Vzorky jedné dřeviny jsem dával vždy do samostatné baňky a to vždy všechny tři řezy najednou.

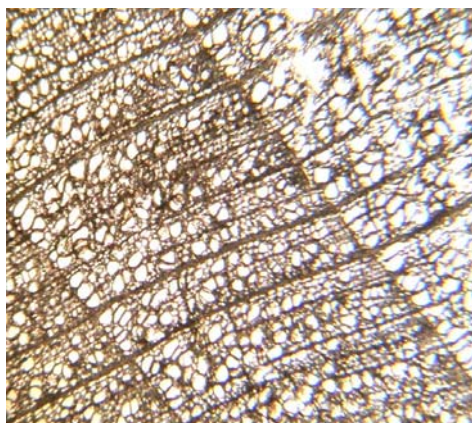
Po vypláchnutí fixáže jsem vzorky měkčil v roztoku glycerol a 30% etanol v poměru 1:1. Výhodou tohoto měkčícího roztoku byla možnost ponechání vzorků v baňkách delší dobu.

Po dostatečném změkčení jsem vzorky řezal na sáňkovém mikrotomu. Vzorků jsem vždy nařezal větší množství a poté vybral nejlepší a nejvhodnější plátek.

Zalítí nařezaných vzorků jsem provedl pomocí speciálního roztoku histologické a cytologické preparáty jenž se prodává pod obchodním názvem Bio Mount (jeden vzorek je vyfocen na obrázku 26). Popis podložních sklíček s preparáty jsem vyřešil nalepením odolných nálepek které jsem si předem vytiskl, viz. obrázek 25.



Obr. 25 Hotový preparát



Obr. 26 Jírovec, příčný řez, 40*zvětšeno

4. Mikroskopie

Základním posláním mikroskopie je pozorování špatně, či slabě viditelných objektů, nebo objektů pouhým okem vůbec neviditelných. Základním a nejjednodušším nástrojem nám může být zvětšovací lupa (čočka rozptylka). Lupy jsou většinou vyrobeny z čirého optického skla, méně kvalitní mohou být vyrobeny z plastu. Pozorování většiny mikroskopických prvků dřeva pomocí lupy je většinou nedostatečné, nebo úplně nemožné. Mnohem dokonalejším přístrojem je mikroskop, zejména pro svoje lepší zvětšovací schopnosti (mikroskop efektivně zvětší až tisíckrát).

4.1. Světelný mikroskop

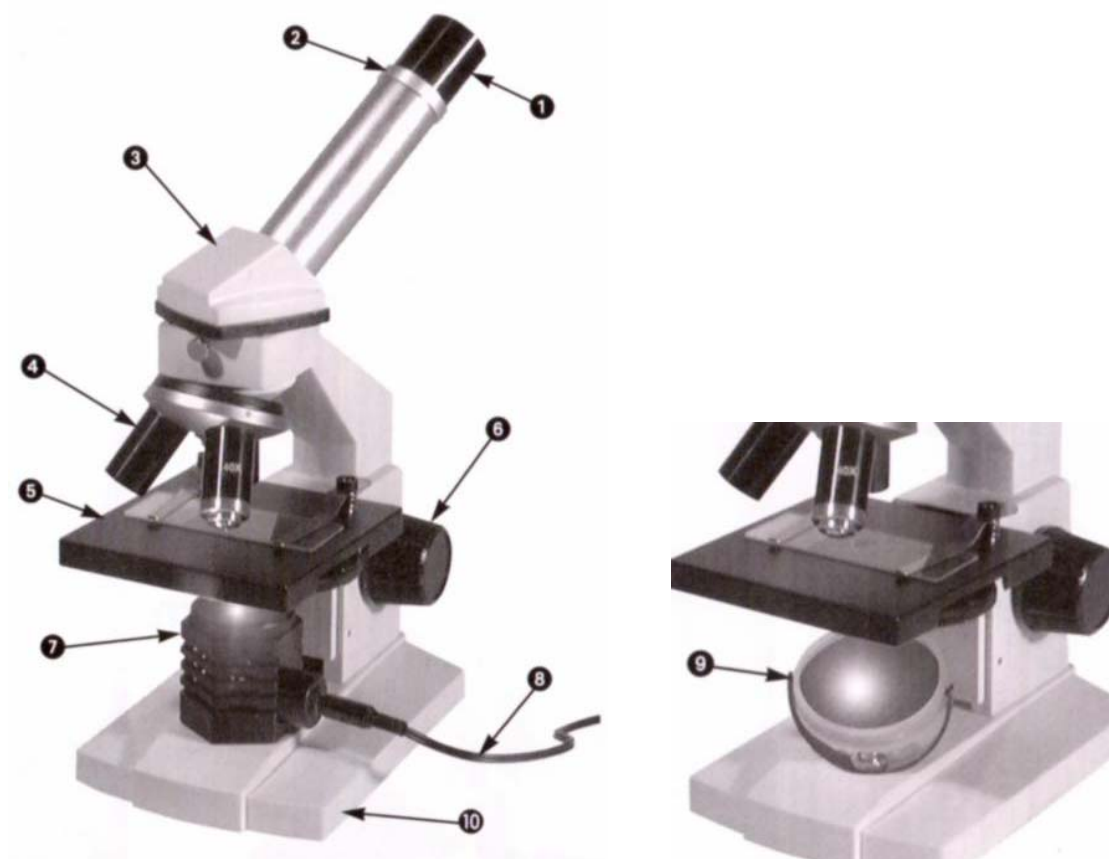
U světelných mikroskopů je k osvětlení pozorovaných objektů používáno viditelného světla (slunečního, nebo umělého). Světelné záření je vedeno pomocí soustavy čoček (objektivem a okulárem), které zvětšují obraz pozorovaného objektu, až se svazek paprsků dostane k sítnici oka pozorovatele.

U světelného mikroskopu klasického složení se pozorovaný předmět vkládá mezi jednoduchou a dvojitou ohniskovou vzdálenost. Objektiv mikroskopu vytváří skutečný, převrácený a zvětšený obraz pozorovaného předmětu. Paprsky světla dále vcházejí do okuláru, ten je umístěn tak, aby obraz jenž byl vytvořen objektivem padl mezi vlastní čočku a její přední ohnisko. Vznikající obraz je ještě více zvětšený, převrácený a neskutečný. Obraz pozorovaného předmětu se nám jeví ostrý tehdy, je-li oko v horním ohnisku okuláru a předmět tak daleko od pozorovaného objektu, aby vytvořil obraz v normální zrakové délce (ta je 250 milimetrů).

Velmi jednoduchý mikroskop je možno sestavit pomocí dvou čoček upevněných v tubusu. Čočka blíže k pozorovanému objektu se nazývá objektivem, čočka na horním konci tubusu se nazývá okulárem. Takovýto pozorovací mikroskop by ovšem měl poměrně nízké zvětšení. Při použití silných čoček se zase příliš projeví jejich vady. Proto jsou v praxi okulár i objektiv složeny ze soustavy čoček, jejichž kombinací se eliminují optické vady jednotlivých čoček. Pod objektivem je umístěn vzorek, který je osvětlován ze světelného zdroje (zrcátko odrážející sluneční světlo, nebo elektrické osvětlení). Další optické zařízení, které pozorovací mikroskop obsahuje nazýváme kondenzor, ten má za úkol soustředit paprsky světla na

pozorovaný objekt. Všechny tyto součásti jsou upevněny na pevném (většinou kovovém) stativu.

4.2. Složení jednoduchého pozorovacího mikroskopu



Obr. 27. Světelný mikroskop

Jednotlivé součásti:

- 1). Okulár
- 2). Tubus
- 3). Otočný kloub tubusu
- 4). Revolver s objektivy
- 5). Stolek mikroskopu
- 6). Zaostrovací šrob
- 7). Elektrické osvětlení
- 8). Přívodní napájecí kabel osvětlení
- 9). Zrcátko
- 10). Stativ

4.2.1. Objektiv

Objektiv se skládá ze soustavy čoček zasazených do válcovitých nebo kuželovitých pouzder, ta jsou opatřena na druhém konci normalizovanými závity díky nimž jdou našroubovat na otočný revolverový záchyt objektivů. Světlo do objektivu vstupuje čelní (frontální) čočkou, ta je ploskovypouklá (plankonkávni). Za čelní čočkou jsou uloženy další optické čočky (z koruntového, flintového skla a kazivce), které odstraňují různé optické vady jednotlivých čoček.

4.2.2. Okulár

Je složen ze soustavy optických čoček, které zvětšují obraz vytvořený objektivem. Okulárové zvětšení je prázdné, okulár nezobrazí více detailů než bylo zobrazeno objektivem. Okulár tvoří většinou dvě nebo tři čočky (soustavy čoček), které jsou mechanicky upevněny v objímce okuláru. Spodní čočka, blíže k pozorovacímu předmětu, se nazývá čočka sběrná (kolektivní). Horní čočka, umístěná blíže k oku pozorovatele se nazývá čočka očníková (frontální). Mezi čočky je umístěna clona kruhového tvaru, v jejíž rovině se tvoří obraz.

4.2.3. Elektronický okulár

Elektronický okulár je zařízení, které umožňuje přenos obrazu z mikroskopu na monitor počítače, díky tomu je možné zhotovování digitálních fotografií. Snímání obrazu je uskutečněno většinou pomocí CCD čipu. Propojení s počítačem je většinou provedeno pomocí USB kabelu. Nejjednodušší elektronické okuláry jsou konstrukčně podobné webovým kamerám.

4.2.4. Zdroj osvětlení pro pozorovaný vzorek

4.2.4.1. Světlo odrážené zrcátkem

Pozorovaný předmět umístěný na pozorovacím stolku mikroskopu pozorujeme v procházejícím světle (spodní osvětlení), světlo se k pozorovanému předmětu dostává kruhovým otvorem ve stolku, tam je směřováno zrcátkem. Tento způsob osvětlování se využívá zejména u školních, žákovských a starších mikroskopů. Osvětlovací zrcátko je

většinou upevněno ve vidlicovém držáku, který mu umožňuje otáčet se ve všech směrech. Osvětlovací zrcátka je většinou na jedné straně rovné a na druhé vyduté (parabolické). Tou stranou zrcátka, která je plochá se k předmětu odrážejí paprsky rovnoběžně, vydutou stranou se k pozorovanému předmětu odrážejí světelné paprsky sbíhavě, díky čemuž je osvětlen intenzivněji. Rovného zrcátka se využívá hlavně při dostatečně velkém osvětlení a při menším zvětšení, vydutého při slabší intenzitě světla a při větším zvětšení. Pokud používáme mikroskop s kondenzorem použijeme většinou rovné zrcátka, duté jen tehdy, máme-li zdroj světla blízko mikroskopu. Osvětlovací zrcátka osvětluje pozorovaný předmět dostatečně pouze v případě, pokud na něj dopadá dostatek světelného záření. Zdrojem světla je v nejjednodušším případě sluneční záření. Denní světlo ovšem nemá stálou intenzitu osvětlení a je většinou dostatečné jen pro menší zvětšení. Další nevýhodou přímého slunečního osvětlení je to, že světlo nedopadá jen na osvětlovací zrcátka, ale osvětluje shora i objektiv a způsobuje tím reflexi, rozklad světla a celkovou neostrost obrazu. Proto je výhodné použít k nasvětlení zrcátka umělého zdroje světla. Vhodné bývá použití žárovky z mléčného skla o příkonu 60 až 100 W, čímž dosáhneme rovnoměrného osvětlení. Pokud použijeme k osvětlení žárovku je vhodné vložit pod kondenzor namodralý kobaltový filtr, kterým vyrovnáme nažloutlé zabarvené světla.

4.2.4.2. Přímé osvětlení zdrojem umělého světla

K přímému osvětlení pozorovaných vzorků používáme elektrické zdroje světla (žárovka nebo LED dioda), který je umístěn na stejném místě kde bývá osvětlovací zrcátka. Výhodou takového osvětlení je jeho snadná obsluha (není nutné nastavování jako u zrcátka) a nemění se intenzita osvětlení jako je tomu u slunce. Nevýhodou může být zahřívání vzorku teplem vznikajícím v žárovce.

4.2.5. Kondenzor

Kondenzor používáme na pozorovacích mikroskopech k docílení rovnoměrného osvětlení pozorovaného předmětu. Důležité je osvětlit pozorovaný předmět rovnoměrně v celém zorném poli. Kondenzor je konstruován podobně jako objektiv, ovšem je do objímky vsazen obráceně, plavkonvexní čočkou nahoru. U kondenzoru jsou čočky větší než u objektivu.

4.2.6. Clona

Slouží k regulaci intenzity osvětlení pozorovaného předmětu. K regulaci množství světla vcházejícího do mikroskopu se používá celá řada konstrukcí clony, jednou z nejjednodušších a nejpoužívanějších konstrukcí je otočné kolečko z několika otvory (nejčastěji 8 - 10) různých průměrů. Nastavením otočného kolečka do jednotlivých poloh omezujeme množství světelných paprsků které projdou do mikroskopu a osvítil pozorovaný vzorek.

4.2.7. Stativ a upevňovací prvky

Stativ bývá největší a nejtěžší částí mikroskopu. Většinou se skládá ze dvou základních částí. Základní část zaručující stabilitu obstarává podstavec, ten bývá ve tvaru písmene U, nebo ve tvaru obdélníkové desky. Druhou částí stativu mikroskopu je nosič tubusu, ten je z podstavcovou částí spojen buď pevně (pomocí šroubů), nebo pomocí čepu umožňujícího naklápění. Na stativu jsou upevněny další prvky a součásti pozorovacího mikroskopu. Jednotlivé prvky ovládání a seřizování jsou konstruovány tak, aby jejich používání bylo co nejsnadnější, některá prvky jsou umístěny tak aby byly snadno přístupné pro pravou i levou ruku.

Další důležitou částí mikroskopu je tubus, ten je spojovací součástí mezi objektivem a okulárem. Tubus zabraňuje vnikání škodlivého světla a prachových částic a nečistot, které by se usazovaly na čočkách. Většinou je složen ze dvou do sebe nasunutých částí. Je konstruován buď jako pevný, nebo jako otočný.

4.3. Zaostřování mikroskopu a posun vzorku

Zaostření pozorovaného předmětu je prováděno jeho posouváním ve vertikálním směru. Nejjednodušeji je tohoto posuvu docíleno pohybem stolku na němž je pozorovaný předmět uchycen, pohybu je docíleno otáčejícím kolečkem upevněným na stativu. Toto kolečko je opatřeno zuby a dosedá na ozubenou lištu připevněnou na posuvném stolku. Tato konstrukce se používá u jednodušších žakovských mikroskopů, pro přesnější pozorování se používá složitější konstrukce.

Pro základní posun slouží šroub hrubého posuvu (makrometrický), bývá umístěn na spodní straně stativu a umožňuje pohyb nosiče tubusu ve vertikálním směru. Hrubý posun je

proveden podobně jako v prvním případě, ozubeným kolečkem a lištou ozubenou lištou na zadní části tubusu. Jemný posuv zajišťuje šroub jemného posuvu (mikrometrický). Zařízení pro jemný posun je umístěno buď soustředně s druhým posuvem, nebo mimo jeho osu. Pro tento posuv existuje řada konstrukcí. Většinou je základem převod jemného pohybu mikrometrického šroubu přes pákové zařízení na tubus. Prstenec šroubu jemného posuvu bývá opatřen měřítkem velikosti posuvu.

Pro upevnění skla s pozorovaným objektem slouží stolek mikroskopu. Vzhledem ke stativu může být stolek pevný nebo posuvný. Pohyb je většinou možný ve dvou na sebe kolmých směrech (křížový posuv), někdy je možno stolek ještě otáčet (kruhový stolek). Na stolku je zařízení pro pohyb sklíčka ve dvou směrech, pohyb se uskutečňuje pomocí dvou šroubů. Jeden šroub umožňuje pohyb preparátu do stran a druhý dopředu a dozadu. Dále stolek bývá opatřen mechanismem pro upevnění skla s pozorovaným preparátem.

5. Závěr

Po zvolení tématu této diplomové práce jsem měl pouze hrubou představu o tom, co vše budu muset udělat pro její kvalitní dokončení. Zvolené téma mi bylo blízké, ale zejména z praktickou částí diplomové práce jsem měl omezené zkušenosti. Začal jsem sháněním literatury pro získání potřebných znalostí, zde jsem narazil na překvapivý nedostatek odborné literatury a to jak v knihovnách tak i v knihkupectvích. Velká část zapůjčené literatury se zabývala vytvářením mikroskopických preparátů pouze okrajově a jednotlivé tituly se často suplovaly. Na začátku jsem si neuvědomoval velký rozsah teoretické části práce, na konec jsem některé kapitoly nemohl zpracovat příliš do hloubky. Jedním z důvodů byla případný velký rozsah práce a druhým důvodem byla praktická část, jenž jsem musel vytvořit. Po zpracování teoretické části diplomové práce jsem měl dostatek informací pro započítí praktické části.

Praktická část začala sháněním a sběrem vhodných dřevin pro tvorbu mikroskopických preparátů. Po menších nesnázích s hledáním některých druhů dřevin se podařilo nashromáždit většinu nejběžnějších místních dřevin, tak jak žádala potřeba výuky laboratorních měření předmětu materiály a technologie. Poté jsem začal na samotné přípravě mikroskopických preparátů, při této činnosti jsem získal podporu katedry biologie pedagogické fakulty. Díky této pomoci se mi podařilo vytvořit nálevy pro fixaci a měkčení vzorků dřevin. Další velkou pomocí ze strany katedry biologie bylo umožnění práce na jejich mikrotomu a poskytnutí prostor laboratoře. Zejména při práci na mikrotomu se vyskytla řada potíží, jenž pramenily většinou z nedostatku praktických zkušeností, často jsem při práci musel experimentovat a vyzkoušet několik postupů. Tato práce si žádala pečlivost a trpělivost. Samotná práce na mikrotomu a uzavírání vzorků do podložních skel zabraly dva dni. Sběr a příprava vzorků byly též časově náročné. Vzorky jsem vytvářel vždy třikrát, jednu sadu pro katedru fyziky oddělení didaktik a technické výchovy, jednu sadu jsem věnoval katedře biologie za podporu jenž mi poskytla a jednu sadu jsem vytvořil jako záložní pro případ, že by některé vzorky pod mikroskopem nebyly zcela dobré. Povedlo se vytvořit kvalitní mikroskopické preparáty na nichž je dobře pozorovatelná struktura dřeva a které budou dobře sloužit při výuce.

Seznam použitých zdrojů

Literatura

- Balabán K.: Nauka o dřevě, první část Anatomie dřeva, SZN Praha 1955
- Černá B.: Bezpečnost práce v dílnách, laboratořích a odborných pracovnách, Rektorát UJEP Brno, 1989
- Eisner K., Havlíček V., Osten M.: Dřevo a plasty, SNTL, 1983
- Gandelová L., Horáček P., Šlezingerová J.: Nauka o dřevě 2004
- Gibbs N.: Dřevo - obrazový přehled více než 100 druhů dřev 2005
- Habrová V.: Biologická technika, UK Praha, 1986
- Habrová V.: Mikroskopická technika, SPN Praha, 1990
- Kafka V. a kol.: Dřevařská příručka, 1. část, SNTL Praha, 1989
- Leitgeb S. a kol.: Cvičení z mikrobiologie, VŠZ Praha, 1983
- Matoušková V., Mašek J.: Stromy a kry, Bratislava, Příroda 1992
- Němec B. a kol.: Botanická mikrotechnika, SZN Praha, 1962
- Pexa B. a kol.: Dřevo a technologie jeho zpracování, SPN Praha, 1962
- Pexa B., Pazdera L.: Laboratorní cvičení z oboru „dřevo“, PF Č. Budějovice, 1985
- Pazourková, Z.: Botanická mikrotechnika, Univerzita Karlova, Praha, 1986
- Požgaj A.: Štruktúra a vlastnosti dreva, 1993
- Riedmiller A., Aas G.: Kapesní atlas, stromy, Slovart, 1994
- Šlezingerová, J., Gandelová, L.: Stavba dřeva, MZLU, 2002
- Vacek: Mikroskopická technika, SNTL Praha, 1990
- Vavřík H., Gryc V.: Metodika výroby mikroskopických preparátů ze vzorků dřeva, Acta 2004

Internet

<http://wood.mendelu.cz> (z této stránky pochází většina použitých obrázků)