

Protokol

Příprava roztěru hemolymfy

Teorie: Pozorování buněk hemocytů, hemolymfa u bezobratlých

Cíl: připravit roztěr z jednoho zástupce hmyzu (Zavíječ voskový nebo Bourec morušový) ke sledování hemocytů u hmyzu.

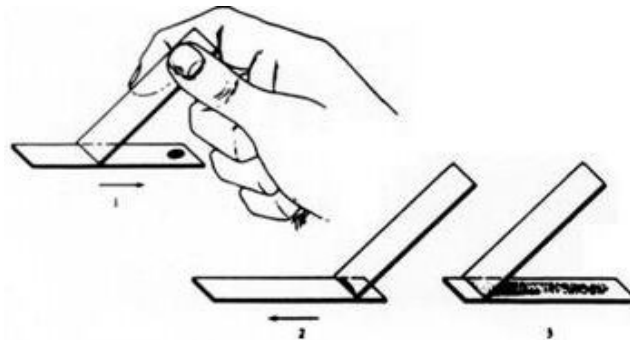
Materiál:

Larvy bource nebo zavíječe, kyvety na barvení, barvicí souprava Leukodif (Biolatest) nebo barvicí roztoky na barvení podle Pappenheima (roztok May - Grünwald v poměru 1:1 s vodou, Giemsa barvivo v poměru 1:9 s destilovanou vodou, metylalkohol), podložní skla, rukavice, alkohol na čištění skel, nastavitelné mikropipety, špičky, oční nůžky, teplotní vodní lázeň

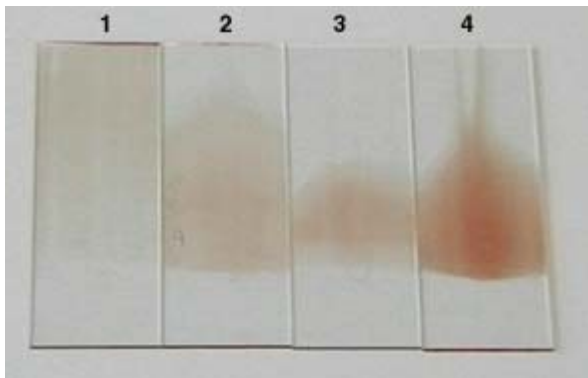
Postup práce:

Ustříhneme 1 nožku larvy a vytékající hemolymfu zachytíme kapkou na sklíčko a kapku rozetřeme a sklíčko s nátěrem zahřejeme, např. na topení. Buňky lépe přilnou ke sklu.

Roztěr:



Roztěry



1. příliš tenký a dlouhý
2. dobrý
3. příliš krátký, kapka krve byla moc malá
4. příliš silný, kapka krve byla moc velká

Barvení podle Pappenheima v kyvetách:

3 min. fixace v kyvetě s metylalkoholem

3 min. May - Grünwald 1:1 s vodou (lépe 2 min.)

15 min. Giemsa - Romanowski 1:9 s vodou

opláchnout ve vodě, nechat schnout

pozn. sklíčka vkládat rubem k sobě do 1 drážky

Barvení soupravou Leukodif 200

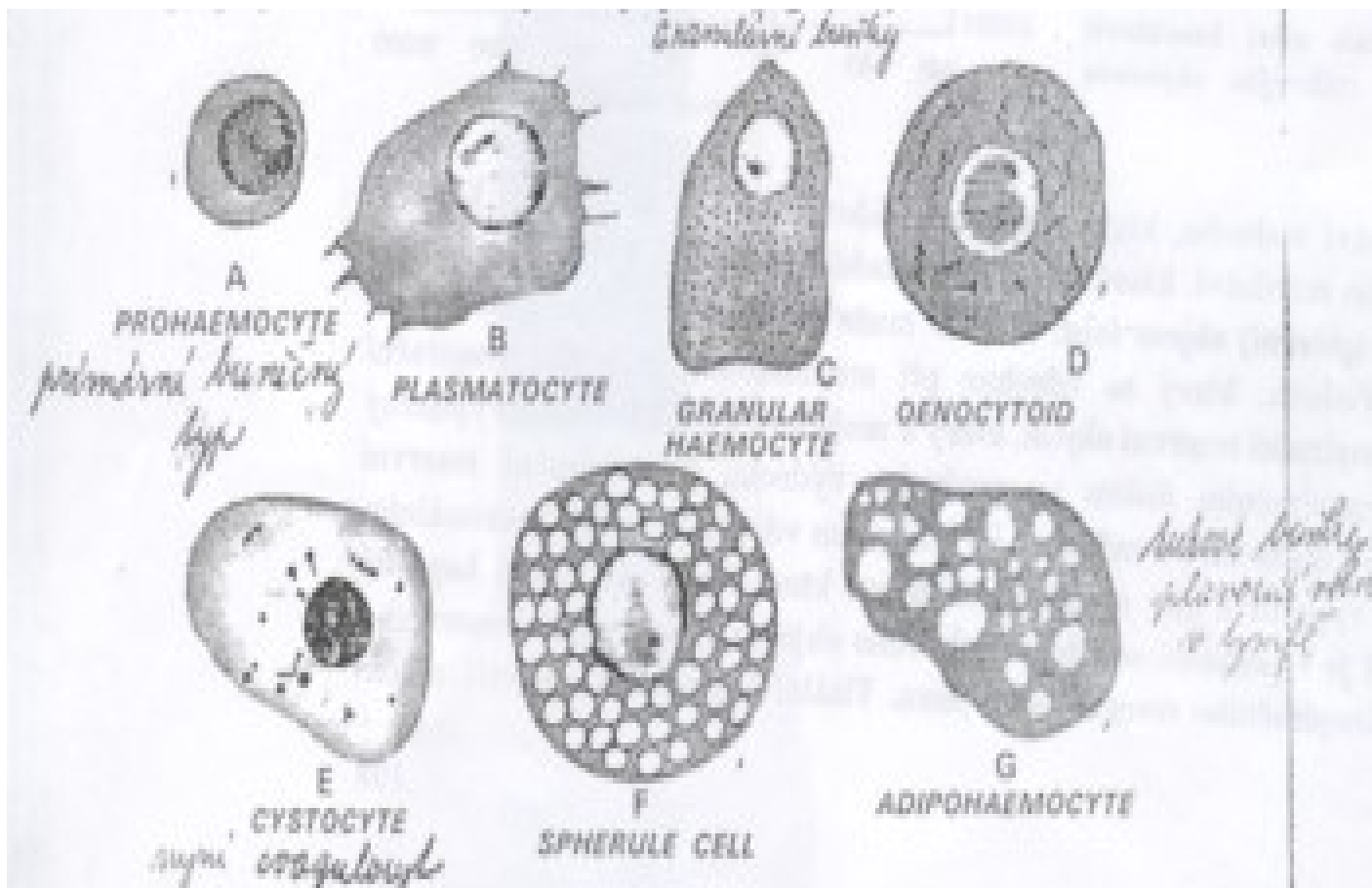
ponořit 5x1s do fixačního roztoku č. 1 (metanol), otřít kapky o stěnu nádoby

ponořit 3x1s do činidla č.2 (barvivo Eosin), otřít kapky o stěnu nádoby

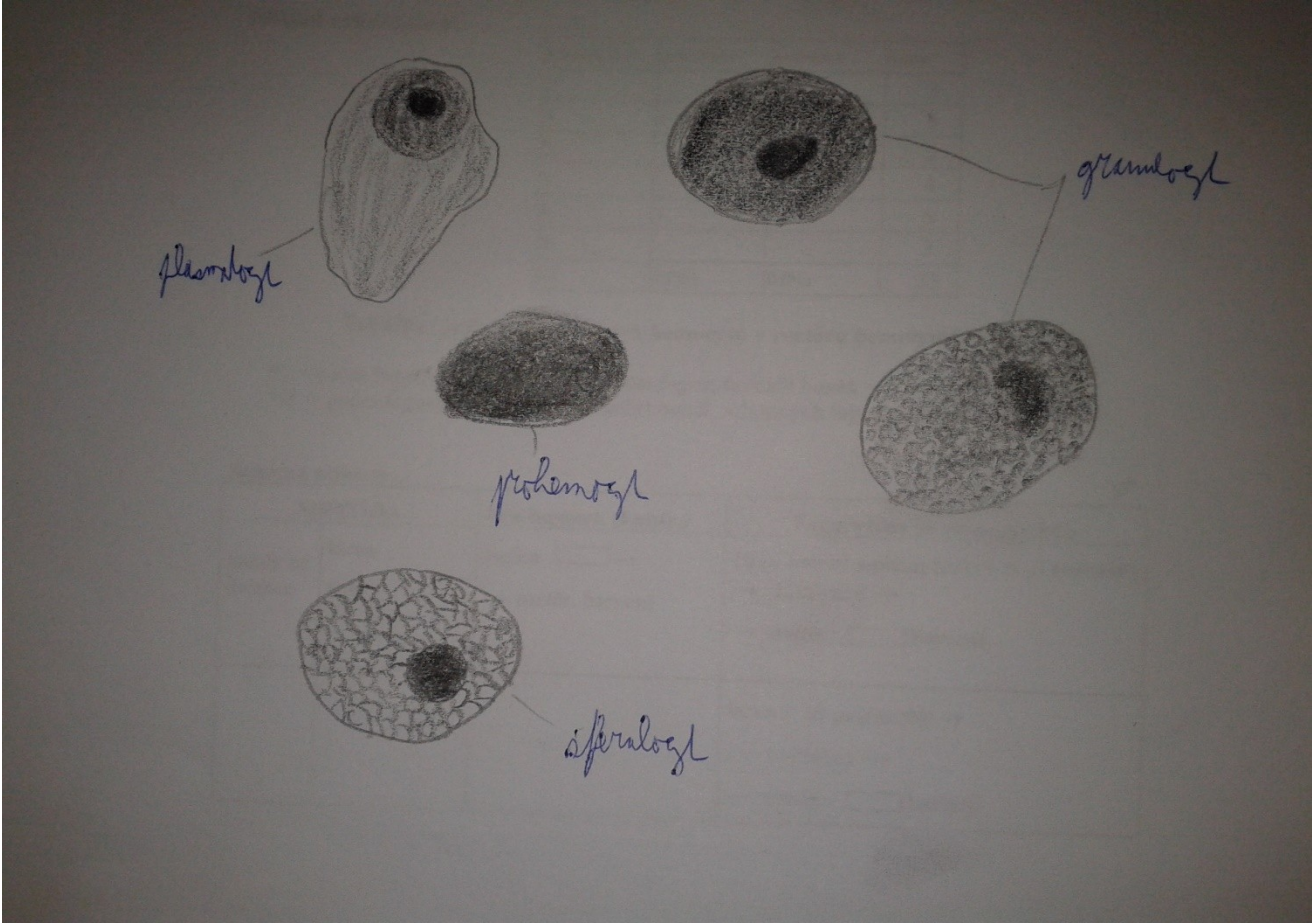
ponořit 5x1s do činidla č. 3 (barvivo Azur), otřít kapky o stěnu nádoby

opláchnout v dest.H₂O a nechat zaschnout na vzduchu

Vyhodnocení: v roztěru z hemolymfy pozorujeme hemocyty a zakreslíme



Příklad nákresu buněk hemolymfy



Závěr: