

Protokol

Příprava roztěru hemolymfy

Teorie: Pozorování buněk hemocytů, hemolymfa u bezobratlých

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

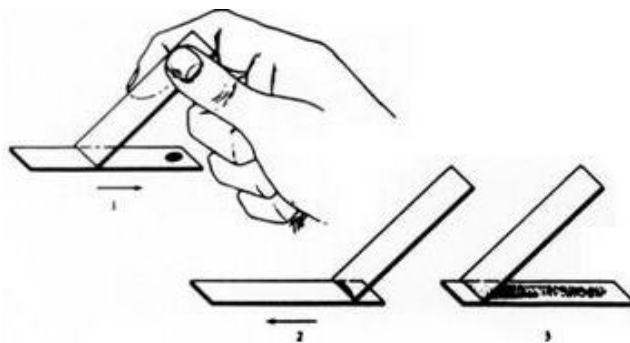
Materiál:

Larvy zavíječe voskového, kyvety na barvení, barvicí souprava Leukodif (Biolatest) nebo barvicí roztoky na barvení podle Pappenheima (metyl alkohol, kyselé barvivo, zásadité barvivo, voda na oplach), podložní skla, rukavice, alkohol na čištění skel, nastavitelné mikropipety, špičky, oční nůžky, imerzní olej, kelímek na mrtvé larvy, teplotní vodní lázeň

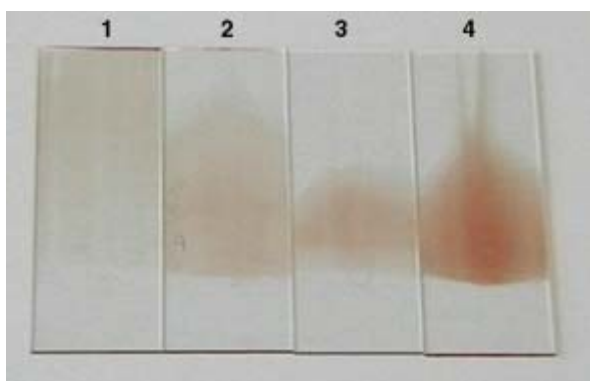
Postup práce:

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

Roztěr:



Roztěry

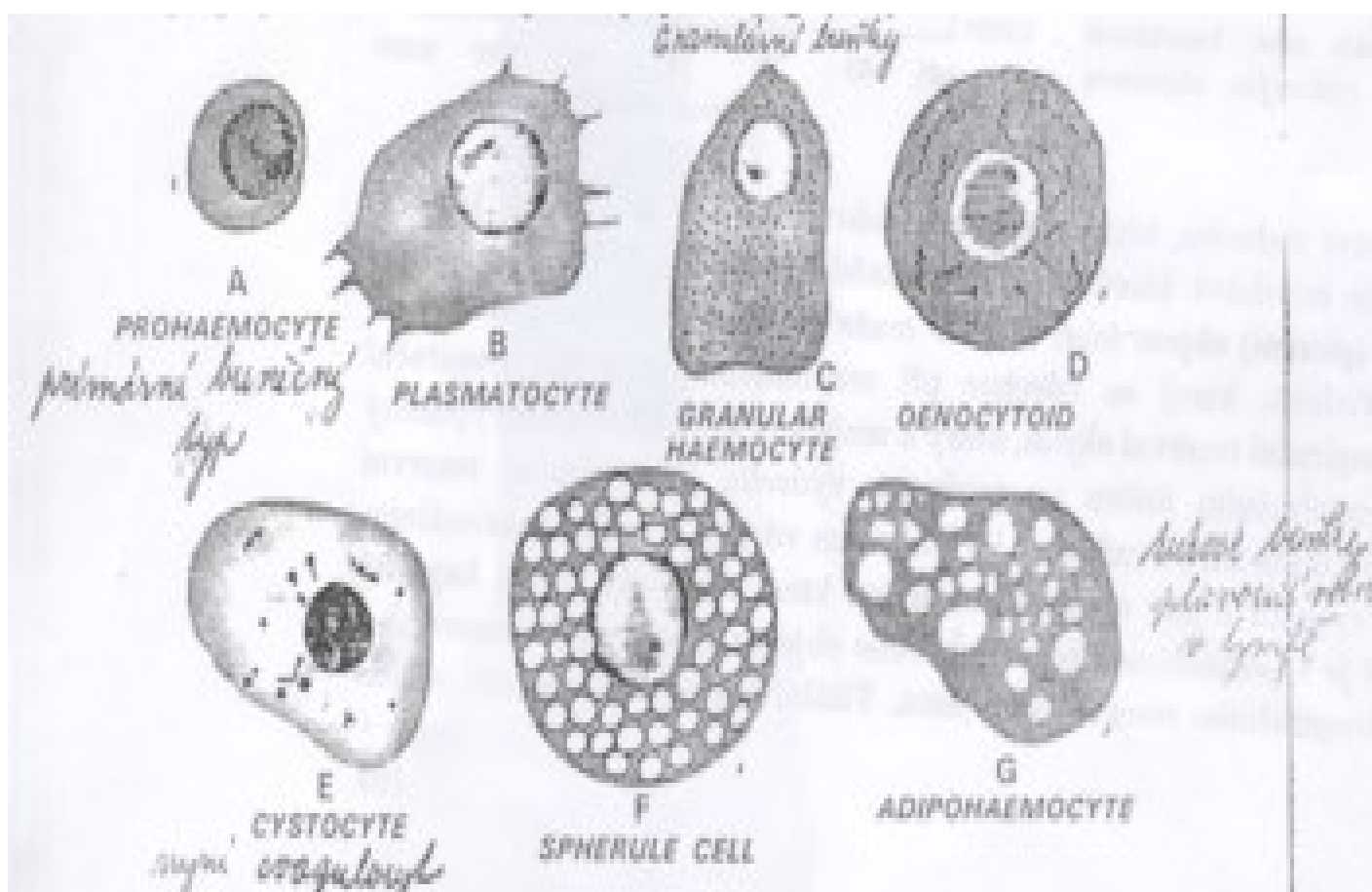


1. příliš tenký a dlouhý
2. dobrý
3. příliš krátký, kapka krve byla moc malá
4. příliš silný, kapka krve byla moc velká

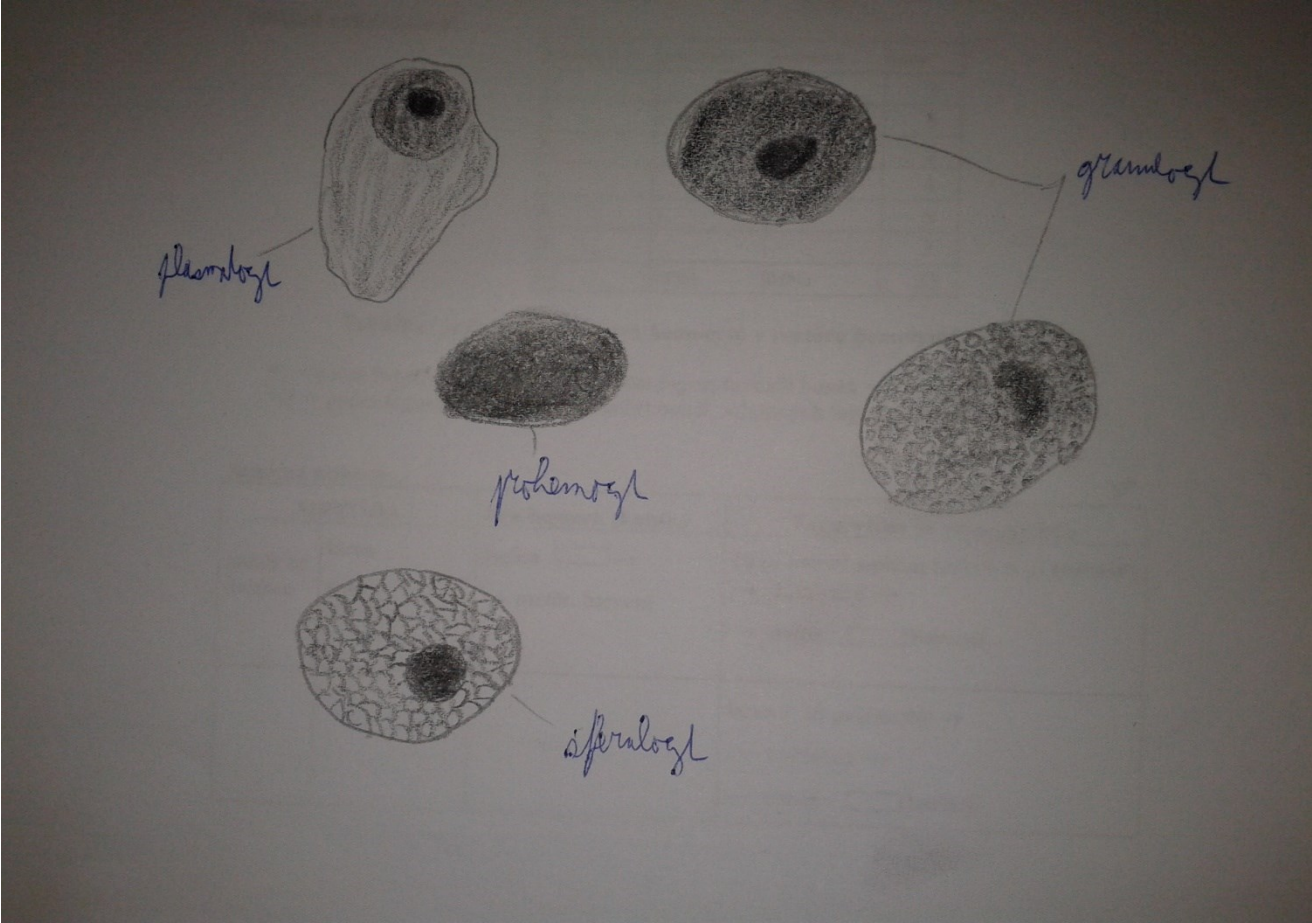
Převzato z http://www.aum.iawf.unibe.ch/hemosurf/Demo_E/Lab/smears_quality.htm

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 nechá zaschnout na vzduchu

Vyhodnocení: v roztěru z hemolymfy pozorujeme hemocyty a zakreslíme



Příklad nákresu buněk hemolymfy



Závěr: