

## Barvení preparátů – ruční a parafínové řezy

### Barviva:

*Toluidinová modř* (1 % roztok v destilované vodě – 1 g/100 ml)

*Safranin O* (0.5% (w/v) roztok v 50% ethanol – 0,5 g/100ml)

*Safranin O* ve vodě (1% (w/v) – 1 g/100 ml)

*Safranin/Fast Green* – safranin (1 g/l ve vodě), Fast Green (0.1 g v 100 ml 96% ethanolu)

*Safranin+alciánová modř*

Safranin: 0.35g safraninu v 35 ml 50% EtOH

Alcian Blue: 0.65g Alcian Blue (alciánová modř) v 65 ml destilované vody,

Oba roztoky nechat míchat magnetickou míchačkou cca. 1 hodinu, pak slít dohromady, promíchat a zfiltrvat. Označit lahvičku: safranin + alciánová modř, datum výroby.

*Floroglucinol HCl* (2% floroglucinol v 96% ethanolu – 0,2 g/10 ml; 25% HCl – může být i menší koncentrace; roztoky nemíchat dohromady )

*Lugolův roztok* (5% (w/v) I<sub>2</sub> 10% (w/v) KI smíchané v destilované vodě)

### Materiál:

Parafínové řezy z předešlé hodiny (odparafinované), řezy z kryotomu

Šáchor, stoněk (na ruční řezy)

Pryšec (kvůli latexu se škrobovými zrny), stoněk voděnky (škrobová zrna v chloroplastech)

### Postupy barvení:

#### Toluidinová modř

1. Žiletkou vytvoříme tenké řezy a ihned je umístíme do kapky vody.
2. Odsajeme pipetou nebo filtračním papírem vodu a ihned zakápneme několika kapkami barvičky. Necháme působit 1-2 minuty.
3. Odsajeme barvičku filtračním papírem a ihned zakápneme *vodovodní* vodou. Odsajeme vodu se zbytkem barvičky a opakujeme zakápnutí a odsátí vody ještě jednou nebo do té doby, dokud se voda barví modře.
4. Nakonec zakápneme vodou/50% glycerolem, přikryjeme krycím sklem a pozorujeme.

## Safranin O

1. Žiletkou vytvoříme tenké řezy a ihned je umístíme do kapky vody.
2. Odsajeme pipetou nebo filtračním papírem vodu a ihned zakápneme několika kapkami barvičky. Necháme působit 10 minut.
3. Odsajeme barvičku filtračním papírem a ihned zakápneme destilovanou vodou. Odsajeme vodu se zbytkem barvičky a opakujeme zakápnutí a odsátí vody ještě jednou nebo do té doby, dokud se voda barví červeně (vypláchnutí přebytku safraninu).
4. Nakonec zakápneme vodou/50 % glycerolem, přikryjeme krycím sklem a pozorujeme.

## Safranin/Fast Green – sukcesivní

	Roztok	Čas*
1	50% ethanol	5 min
2	1 g/l safranin (vodný roztok)	10 min
3	50% ethanol	2x5 min
4	75% ethanol	5 min
5	Fast Green (0,1% v 96% ethanolu)	4 min
6	96% ethanol	5 min**
7	100% ethanol (E)	5 min
8	E:X 1:1	5 min
9	Xylén (X)	5 min
10	Montování do Eukittu	

\*časy barvení jsou orientační, záleží na druhu preparátu, nutno vyzkoušet (preparační mikroskop pro kontrolu)

\*\*v tomto bodě stačí opláchnout 96% ethanolom a pak zakápnout 50% glycerolem, přikryt krycím sklíčkem a pozorovat

## Safranin+alciánová modř – simultánní

Pokud řezy v ethanolu, tak rehydratovat ve vodě po dobu 5 min. Ruční řezy rovnou barvit.

5 min.....směs safranin+alciánová modř (viz Barviva)

2x.....opláchnout v destilované vodě

Pozorovat nebo trvalý preparát:

2 min.....50% EtOH

2 min.....75% EtOH

2 min.....96% EtOH

1x.....opláchnout v 100% EtOH

1x.....opláchnout v 100% xylenu

Namontovat na sklíčko do Eukittu.

## **Lugolův roztok**

1. Vytvořte preparát ve vodě a přikryjte krycím sklíčkem.
2. Vedle krycího sklíčka dejte kapku LR
3. Na okraj protější strany krycího sklíčka přiložte filtrační papír – odsátím vody se pod sklíčko vsune LR z kapky vedle sklíčka.
4. Pozorujte pod mikroskopem

## **Floroglucinol HCl**

1. Připravte ruční řez do kapky vody.
2. Odsajte filtračním papírem vodu a zakápněte směsí floroglucinol HCl (Wiesnerův roztok).
3. Po 2 minutách odsajte barvičku (při pozorování v barvičce by mohly kyselé výpary poškodit mikroskop) a zakápněte vodou/50% glycerolem.
4. Ihned pozorujte, barvení postupně mizí (není stálé).