

Barvení preparátů – ruční a parafínové řezy

Barviva:

Toluidinová modř (1 % roztok v destilované vodě – 1 g/100 ml) , je možné i jiné koncentrace

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 + alcianová modř

Safranin: 0.35g safraninu v 35 ml 50% EtOH

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

Oba roztoky nechat míchat magnetickou míchačkou cca. 1 hodinu, pak slít dohromady, promíchat a zfiltrvat.

Safranin + astrablue

Safranin: 0,8 g safraninu ve 100 ml destilované vody

Astrablue: 0,5 g astrablue ve 100 ml destilované vody + 2 ml kyseliny octové

Oba roztoky rozmíchat samostatně, pak slít dohromady. Označit. (díky kyselině je barvička stabilní)

Materiál:

Šáchor, stonek (na ruční řezy)

Řapíkatý celer, řapík (ruční řezy)

Postupy barvení:

I. 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 **max. 1 minutu**.
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.

II. 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, vhodné vyzkoušet (preparační mikroskop pro kontrolu)

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

III. 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

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.)

IV. Safranin + astrablue – simultánní

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 **3-5 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 než je voda čirá.
4. Nakonec zakápneme vodou/50% glycerolem, přikryjeme krycím sklem a pozorujeme.

V. Safranin (1%) – sejně jako I., ale barvit 5 minut, pak důkladně propláchnout destilovanou vodou.