

## **1. Příprava trvalého preparátu s glycerol-želatinou**

Glycerol-želatina je uzavírací medium vhodné pro školní práci, protože práce s ní je snadná a levná. Glycerol-želatina je vodou mísitelné médium. Její příprava je nenáročná a zhotovení preparátu rychlejší a snadnější než v případě kanadského balzámu. Preparát je ale třeba rámovat.

Do glycerol-želatiny uzavíráme drobný hmyz nebo části hmyzího těla, roztoče, drobné korýše. Máme-li objekty fixované ve formaldehydu (4%) je třeba je převést do roztoku glycerolu a vody (1:5 nebo 1:10), máme-li je fixované v 70% alkoholu, převedeme je do roztoku glycerolu a absolutního alkoholu (1:5 nebo 1:10). Preparáty rámuje du Noyerovým tmelem.

### **Materiál**

- perloočky nebo buchanky fixované v 70% alkoholu
- podložní sklo a krycí sklíčko
- absolutní alkohol, destilovaná voda
- glycerol-želatina (příprava – viz níže)
- du Noyerův tmel (příprava – viz níže)
- kahan, síťka na kahan, vodní lázeň (kádinka s vodou)
- zkumavka (10 ml), skleněná tyčinka, pinzeta, žiletka

### **Postup zhotovení preparátu**

Objekt (perloočku nebo buchanku) fixovaný v 70% alkoholu přeneseme do roztoku alkoholu a vody (v poměru 1:5), který máme kápnutý na podložním sklíčku. Alkohol pak necháme odpařit (buď při pokojové teplotě nebo v termostatu při 40°C). Zakápneme kapkou glycerol-želatiny. Přikryjeme krycím sklíčkem. Pokud se glycerol-želatina nerozlila pod celým krycím sklem, nahřejeme mírně celý preparát vysoko nad kahanem (nebo např. nad topením). Preparát necháme 3-4 dny tuhnout. Přebytnou glycerol-želatinu oškrábeme žiletkou. Preparát pak zarámujeme du Noyerovým tmelem. Preparáty skladujeme ve vodorovné poloze, vydrží několik let.

### **Příprava glycerol-želatiny**

7 g čisté želatiny, 40 ml destilované vody, 40 ml čistého glycerolu, 0,5 g krystalického fenolu. Fenol je pro desinfekci. Co nejčistší želatinu necháme asi 2 hodiny buřet v 40 ml destilované vody a pak ji rozpustíme za tepla ve vodní lázni. Jakmile je dokonale rozpuštěna, přidáme glycerol, dále fenol (rozežírání plasty), dobře promícháme a ještě horkou zfiltrujeme přes skleněnou vatu. Nalijeme do malých zkumavek (10 ml) a v případě potřeby glycerol-želatinu rozpustíme ve vodní lázni. Můžeme ji nechat ztuhnout v Petriho misce, rozkrájet na krychličky o hraně 5 mm a uchovat v širokohrdlé láhvi se zabroušenou zátkou a odebírat v případě potřeby.

### **Příprava du Noyerova tmelu**

20 g bezvodého lanolinu (vosk z ovčí vlny) nebo včelího vosku, 80 g kalafuny – nejlépe drcené. Lanolin zahříváme v prázdné plechové konzervě (dobře vymyté, 500 ml) 20-30 minut na síťce nad kahanem (nebo na vařiči), aby se vypudily zbytky vody (přestane prskat). Za stálého zahřívání a mísení potom přidáváme kalafunu. Po vymíchání do hladka přeplníme do pracovních plechových nádobek (např. krabičky od krémů). Pozor, tmel tuhne velmi rychle.

## **2. Příprava trvalého preparátu s kanadským balzámem**

Kanadský balzám je médium s vodou nemísitelné (na rozdíl od glycerolu nebo glycerol-želatiny). Rozpouští se v xylenu, benzenu, chloroformu a terpentýnu. Má vysoký index lomu ( $n=1,535$ ), takže objekty dobře projasňuje. Hustý kanadský balzám se rozpouští nejčastěji čistým xylemem nebo benzenem. Přechovává se ve skleněných lahvičkách a přenáší skleněnou tyčinkou.

Suché objekty (jehlice hub, ptačí peří, křídla hmyzu, vlasy) můžeme dávat přímo do kapky kanadského balzámu. Objekty, které obsahují vodu (čerstvý hmyz a jeho orgány, drobní korýši, červy) je nutno odvodnit. K odvodnění se používá vzestupná alkoholová řada, kdy se objekty nechávají v alkoholu 70%, 96% a pak v absolutním alkoholu. V alkoholu se ponechávají různou dobu podle velikosti – drobné objekty (1-2 mm) 10-15 minut, větší (5-10mm) pak i několik hodin. K projasnění objektů je možno použít několik látek. Nejjednodušší je ale použití hřebíčkové silice, ve které se objekty podle velikosti několik minut ponechají.

### **Materiál**

- drobní bezobratlí vodní živočichové (perloočky, buchanky, drobní červi), hmyz nebo parazité
- podložní sklo a krycí sklíčko, skleněná tyčinka, malé Petriho misky
- kanadský balzám (lze koupit u firem prodávajících laboratorní potřeby)
- hřebíčková silice (lze koupit v malých lahvičkách v květinářství nebo drogerii)
- alkohol 70%, 96%, absolutní alkohol, destilovaná voda
- pinzeta, preparační jehla

### **Postup přípravy**

Objekt přeneseme z fixační směsi do 70% alkoholu. Ponecháme 10 minut, pak přeneseme do 96% alkoholu, ponecháme opět 10 minut a přeneseme (opět na 10 minut) do absolutního alkoholu. Pak objekt přeneseme na 10 minut do hřebíčkové silice. K tomuto účelu použijeme buď malé Petriho misky nebo k tomu dobře poslouží jakékoli malé nádoby, nejlépe skleněné. K přenosu používáme buď pinzetu (nejlépe entomologickou) nebo preparační jehlu.

Na podložní sklo kápeme skleněnou tyčinkou kapku kanadského balzámu, přeneseme do ní objekt a přiklopíme krycím sklíčkem. Přebytek kanadského balzámu můžeme setřít vatou namotanou na špejli a namočenou v xylenu nebo benzenu. Preparát sušíme ve vodorovné poloze buď při pokojové teplotě (tuhnutí trvá déle) nebo v termostatu při 30°C. Při okrajích tuhne kanadský balzám rychle, uvnitř preparátu však zůstává dlouho tekutý. Preparát není třeba rámovat. Je třeba ho skladovat ve vodorovné poloze. Vydrží desítky let.

### **3. Příprava suchého trvalého preparátu rámováním**

Trvalý preparát upravený rámováním je buď preparát suchý – to znamená, že je objekt bez média – nebo preparát, kde je objekt v médiu – a to buď v glycerolu nebo v glycerol-želatině. Jiná běžně používaná dobře tuhnutí média nevyžadují rámování (např. kanadský balzám). Rámeček kolem krycího sklíčka se vytváří z du Noyerova tmelu. Dobře zhotovený preparát vydrží desítky let.

K rámování se používá tzv. rámovačka. Je to tříhranná lopatka (hrana musí být o kousek delší než je hrana krycího sklíčka) s vyříznutým středem, která je zhotovena z mosazného plechu a má dřevěnou násadku. Rámovat se může i vhodně upraveným drátem. Pokud se zhotovuje suchý trvalý preparát, je možno k rámování použít také např. lak na nehty, i když trvanlivost tohoto preparátu nebude dlouhá.

#### **Materiál**

- pro suchý preparát např. křídlo motýla, křídlo včely, peří, pyl
- du Noyerův tmel
- rámovačka
- papír pro otírání rámovačky, nejlépe filtrační
- podložní sklo a krycí sklíčko
- lihový nebo plynový kahan
- preparační jehla, žiletka, zápalky

#### **Postup zhotovení suchého preparátu**

Na podložní sklo umístíme objekt. Přikryjeme krycím sklíčkem. Rámovačku nahřejeme nad kahanem a ihned ponoříme do du Noyerova tmelu (dále jen tmel). Z rámovačky necháme stéci kapku do rohu krycího sklíčka tak, aby se přichytilo k podložnímu sklu, totéž uděláme v protilehlém rohu. Krycí sklíčko si mezitím přidržujeme preparační jehlou v druhé ruce.

Po zaschnutí těchto kapek (cca 2 minuty) můžeme pokračovat. Nahřejeme v plameni rámovačku, ponoříme do tmelu a přiložíme na podložní sklo těsně na hraně krycího skla, rovnoběžně s ním. Necháme tmel stéci a rámovačkou ho část do strany roztáhneme. Takto zarámujeme všechny strany krycího sklíčka. Šířka rámečku z tmelu by měla být asi 2 mm. Rámovačkou za tepla rámeček upravujeme. Preparát označíme a necháme několik dní zaschnout. Po zaschnutí rámeček upravíme žiletkou. Dobře připravený preparát vydrží mnoho let. Skladovat je ho možno ve svislé poloze.

#### **Příprava du Noyerova tmelu**

20 g bezvodého lanolinu (vosk z ovčí vlny) nebo včelího vosku, 80 g kalafuny – nejlépe drcené. Lanolin zahříváme v prázdné plechové konzervě (dobře vymyté, 500 ml) 20-30 minut na síťce nad kahanem (nebo na vařiči), aby se vypudily zbytky vody (přestane prskat). Za stálého zahřívání a mísení potom přidáváme kalafunu. Po vymíchání do hladka přeplníme do pracovních plechových nádobek (např. krabičky od krémů). Pozor, tmel tuhne velmi rychle.

---

#### **Literatura (pro všechny tři přípravy):**

Knoz J. a Opravilová V. (1992): Základy mikroskopické techniky. Skriptum MU v Brně, Brno, 195 s.,

Wolf J. (1954): Mikroskopická technika. SPN, Praha, 651 s.

Jírovec a kol. (1958): Zoologická technika. SPN, Praha, 314 s.