

Laboratório de Citogenética Vegetal – UFPE

Dupla coloração com os fluorocromos CMA e DAPI

Versão de maio/2025

(Vaio *et al.*, 2018. Botanical Journal of the Linnean Society 188: 269–280)

→ – Preparação das lâminas

Prepare as lâminas com digestão enzimática e guarde-as em uma caixa, protegida da poeira até o momento da coloração.

→ – Coloração com CMA/DAPI

- Coloque 8 μL de CMA (0,1 mg/mL; ou 0,5 mg/mL para materiais com muito citoplasma ou que possuam bandas fracas) sobre as células e cubra com uma lamínula 20 x 20 cm. Guarde a lâmina em câmara úmida escura, por 1 hora.
- Retire a lamínula e o excesso de corante com um jato de água destilada e seque a lâmina rapidamente com uma bomba de ar.
- Em seguida, acrescente 8 μL de meio de montagem glicerol/McIlvaine pH 7,0 (1:1) contendo 2,5 mM de MgCl_2 e 1 $\mu\text{g/mL}$ de DAPI.
- Cubra com lamínula, comprima ligeiramente entre folhas de papel filtro para retirar o excesso de meio e vede com esmalte.
- As lâminas devem ser mantidas no escuro à temperatura ambiente durante 2-3 dias antes da análise sob microscópio para estabilização dos fluorocromos.