



Responsável pelo protocolo: Marcus Vinicius Domingues

ESPECIFICAÇÕES PARA PREPARAÇÃO DE MONOGENOIDEA PARA MICROSCOPIA CONFOCAL	
Preparação	1 N NaOH (5 minutos)* * Somente para espécimes de água doce
Coloração	Tricrômico de Gomori <ol style="list-style-type: none">1. Transferir os espécimes para uma pequena gota de corante, no centro de uma placa de Petri pequena.2. Corar por 1-3 minutos (Monocotilídeos coram melhor após 10 a 15 minutos)3. Inundar a placa de Petri em ethol absoluto4. Diferenciar com gotas de água.5. Transferir os espécimes para outra placa de Petri contendo ethol absoluto.6. Desidratar por 1-5 minutos7. Transferir para creosoto de faia.8. Deixar em creosoto de faia até clarificar.9. Montar espécimes em bálsamo do Canadá ou Euparal™.

ESPECIFICAÇÕES PARA CONFOCAL FLUORESCENCIA PARA MONOGENOIDEA (ESTRUTURAS ESCLEROTIZADAS)	
ESPESSURA SLICE	0.115 µm
TAMANHO IMAGEM	512X512 pixels
CONTRASTE	9818
PINHOLD	17
FILTRO DE EMISSÃO	590
ZOOM	1.9
LENTE	3
MAGN	63X1.4 (numeric aperture)
LASER	488
FILTRO DE EMISSÃO	VERDE
LASER	AZUL
ATTE	1
ESPESSURA	20-70 µm
AVERAGE LINE	4
TIME	2 s

FÓRMULA: TRICRÔMICO DE GOMORI (HUMASON, 1979)	
Cromotrope 2R	0,6 g
Azul anilina	0,6 g
Ácido fosfomolibdênico	1 g
Ácido clorídrico	1 ml
Água destilada	100 ml
Modo de preparo	<ol style="list-style-type: none">1. Reunir o cromotrope, o azul anilina e o ácido fosfomolibdênico2. Dissolver tudo em água destilada.3. Adicionar ácido clorídrico4. Não filtrar5. Aguarde cerca de 24 horas antes de usar.6. Guardar sob refrigeração e usar frio.

Referências

- Amato, J.F.R., W.A. Boeger & S.B. Amato. 1991. Protocolos para laboratório - Coleta e Processamento de Parasitos de Pescado. Imprensa Universitária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 81pp.
- Galli, P., G. Strona, A.M. Villa, F. Benzoni, S. Fabricio, D. S. Maria & D.C. Kritsky. 2006. Three-Dimensional Imaging of Monogenoidean Sclerites by Laser Scanning Confocal Fluorescence Microscopy. Comparative Parasitology. *In press*.
- Humason, G.L. 1979. **Animal tissue techniques**. 4th ed. W.H. Freeman and Company, San Francisco, C.A, USA. 661 pp.