

## **Laboratório de Citogenética Vegetal – UFPE**

### **Dupla coloração com os fluorocromos CMA e DAPI**

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

#### **I – Preparação das lâminas**

Prepare as lâminas com digestão enzimática e guarde-as em uma caixa, protegida da poeira, por 3 dias à temperatura ambiente.

#### **II – Coloração com CMA/DAPI**

- Coloque 8 µl de CMA (0,1 mg/ml) 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<sub>2</sub> e 1 µg/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 3 dias antes da análise sob microscópio para estabilização dos fluorocromos.