

انواع معرف‌ها در رنگ آمیزی مضاعف

علی اکبری

کارشناس ارشد زیست‌شناسی گیاهی (سلولی - تکوینی)
دبیر زیست‌شناسی شهرستان ابهر

اشاره

برای بررسی بافت‌های اندام‌های گیاهی بعد از تهیه برش از نمونه‌ها لازم است آن‌ها را رنگ آمیزی کنند. برای رنگ آمیزی مقاطع گیاهی از دو روش رنگ آمیزی ساده یا مضاعف استفاده می‌شود. روش متداول و دقیق، رنگ آمیزی مضاعف است. در این روش برای رنگ آمیزی مقاطع گیاهی از دو نوع رنگ مختلف استفاده می‌شود که هر کدام از آن‌ها دیواره سلولی گروه خاصی از بافت‌ها را رنگ آمیزی می‌کند. به‌طور معمول در این روش برای رنگ آمیزی بافت‌هایی که دیواره سلولی سلولزی دارند، از رنگ کارمن زاجی و بافت‌هایی که دیواره‌های چوبی، چوب پنبه‌ای و کوتینی دارند از رنگ سبز متیل یا آبی متیل استفاده می‌کنند. در این مقاله علاوه بر شرح روش تهیه و استفاده از رنگ‌های فوق به معرفی رنگ‌هایی پردازیم که می‌توانند جانشین رنگ‌های مذکور شوند. ذکر این نکته لازم است که در همه این روش‌ها باید مراحل آماده‌سازی مقاطع قرار دادن در آب ژاول ۱۰٪، شست‌وشو، اسید استیک ۵٪ و شست‌وشو) اجرا شود.

کلیدواژه‌ها: رنگ آمیزی مقاطع گیاهی، کارمن، سبزید، فوشین، بیسمارک

الف - معرف‌های مورد استفاده برای مطالعه بافت‌های سلولزی

۱. کارمن زاجی

روش تهیه

چهار گرم زاج آمونیاکی (زاج سفید) را در ۱۰۰ سی‌سی آب حل کنید، به‌طوری که محلول اشباع تهیه شود و سپس یک گرم پودر کارمن اضافه کنید و هم بزنید. محلول حاصل را حدود ۳۰ دقیقه بجوشانید و سپس ۱۲ ساعت بی‌حرکت در محیط تاریک و دمای آزمایشگاه نگهداری و بعد صاف کنید. برای جلوگیری از کپک زدن محلول به آن دو بلور فنل اضافه کنید (به علت سمی بودن فنل از دست زدن به آن خودداری کنید). اضافه محلول را در ظرف کدر ذخیره کنید.

روش استفاده

مقاطع گیاهی را ۱۵ دقیقه در این محلول قرار دهید. این رنگ‌بافت‌های سلولزی (پارانشسیم، کلانشسیم، آبکشی و فیبرهای سلولزی) را به رنگ قرمز ارغوانی درمی‌آورد.

انواع رنگ کارمن:

دو نوع رنگ کارمن وجود دارد:

الف- کارمن آله: مقدار کارمن آن کم است، الکل ندارد و برای رنگ کردن مقاطعی استفاده می‌شود که قبلاً درون فیکساتور قرار داده شده‌اند.

ب- کارمن پیکرو: این رنگ برای رنگ کردن مقاطع تازه به کار می‌رود، یعنی بافت‌هایی که قبلاً در فیکساتور قرار داده نشده باشد. مدت نگهداری مقاطع در محلول رنگ نیم ساعت یا بیشتر است.

۲. قهوه‌ای بیسمارک

روش تهیه

یک گرم پودر رنگ قهوه‌ای بیسمارک را در ۱۰۰ سی‌سی الکل ۸۰ درجه حل کنید.

روش استفاده

مقاطع گیاهی را نیم تا یک دقیقه در این محلول قرار دهید. این رنگ بافت‌های سلولزی (پارانشسیم، کلانشسیم، آبکش و فیبرهای سلولزی) را به رنگ قهوه‌ای در می‌آورد.

قرمز کنگو

روش تهیه

یک گرم پودر قرمز کنگو را در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر حل نمایید.

روش استفاده

مقاطع گیاهی را ۱۵ دقیقه در این محلول قرار دهید سپس نمونه‌ها را با آب مقطر شست‌وشو داده و بعد در الکل ۹۰ درجه شست‌وشو دهید. این رنگ بافت‌های سلولزی (پارانشسیم، کلانشسیم، آبکشی و فیبرهای سلولزی) را به رنگ قرمز نارنجی

درمی‌آورد.

ب- معرف‌های مورد استفاده برای

بررسی بافت‌های چوبی، چوب پنبه‌ای

و کوتینی

۱. سبز متیل

روش تهیه

یک گرم پودر سبز متیل را در ۲۰ سی‌سی الکل ۸۰ درجه حل کنید و سپس حجم آن را به وسیله آب مقطر به ۱۰۰ سی‌سی برسانید.

روش استفاده

مقاطع گیاهی را ۳۰ ثانیه در این محلول قرار دهید. این رنگ بافت‌های چوبی (اسکلرانشسیم، آوند چوبی)، چوب پنبه‌ای و کوتینی را به رنگ آبی درمی‌آورد.

۲. آبی متیل

روش تهیه

نیم گرم پودر آبی متیل را در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر حل کنید و سپس حجم آن را به یک لیتر برسانید.

روش استفاده

مقاطع گیاهی را ۳۰ ثانیه در این محلول قرار دهید. این رنگ بافت‌های چوبی (اسکلرانشسیم، آوند چوبی)، چوب پنبه‌ای و کوتینی را به رنگ آبی درمی‌آورد.

۳. فلوروگلووسین

روش تهیه

دو گرم پودر فلوروگلووسین را در ۱۰۰ سی‌سی الکل ۹۰ درجه حل کنید.

روش استفاده

ابتدا مقاطع گیاهی را در اسید کلریدریک قرار دهید و پس از شست‌وشوی کافی با آب مقطر آن‌ها را در محول ۲ درصد فلوروگلووسین قرار دهید. در موقع بررسی باید یک قطره اسید کلریدریک اضافه کنید

تا بافت‌های چوبی (اسکلرانشسیم، آوند چوبی)، چوب پنبه‌ای و کوتینی را به رنگ قرمز تیره درآورد.

روش تهیه اسید کلریدریک

۱۸ میلی‌لیتر اسید کلریدریک تجاری را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق کنید. (احتیاط: ابتدا آب مقطر را در ظرف بریزید و سپس آرام از کناره ظرف اسید را اضافه کنید)

۴. سبزید

روش تهیه

یک گرم سبزید را در ۱۰۰ الکل ۷۰ درجه حل کنید.

روش استفاده

مقاطع گیاهی را ۳۰ ثانیه در این محلول قرار دهید. این رنگ بافت‌های چوبی (اسکلرانشسیم، آوند چوبی)، چوب پنبه‌ای و کوتینی را به رنگ سبز درمی‌آورد.

۵. فوشین بازی

روش تهیه

یک گرم پودر فوشین بازی را در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر حل کنید.

روش استفاده

مقاطع گیاهی را یک دقیقه در این محلول قرار دهید. این رنگ بافت‌های چوبی (اسکلرانشسیم، آوند چوبی)، چوب پنبه‌ای و کوتینی را به رنگ قرمز درمی‌آورد.

منابع

۱. سیدمظفری، فریده دخت. (۱۳۷۰) آزمایشگاه ریخت‌شناسی و تشریح گیاهی. انتشارات دانشگاه پیام نور.
۲. صدوقی، ژاله. (۱۳۷۲) جزوه آزمایشگاه تشریح و مورفولوژی گیاهی. انتشارات دانشگاه تربیت معلم تهران.
۳. قهرمان، احمد (۱۳۷۳) گیاه‌شناسی پایه جلد اول. انتشارات دانشگاه تهران.
۴. مجد، احمد. (۱۳۷۰) یاخته گیاهی (ساخت و کار). مرکز نشر دانشگاهی، تهران.