

رنگ آمیزی بافت گیاهی

رنگ آمیزی بافت های گیاهی به دو منظور انجام می شود :

- ۱ - پدیدار ساختن قسمت هایی که در حالت عادی شفاف و نامرئی هستند.
- ۲ - مشخص کردن یک جز از اجزای دیگر.

مواد رنگی هم در واقع شامل ترکیباتی هستند که درون اجزای مقطع و سلول ها نفوذ می کنند و چون انواعی از آنها از لحاظ شیمیایی نیز واکنش هایی با اجزای سلول ها و مقاطع انجام می دهند، تاثیری دائمی بر مقاطع می گذارند برای رنگ آمیزی بافت ها، قبل از مقطع گیری اندام مورد مطالعه را در محلول های ثابت کننده بیندازید. این محلول ها سلول های زنده را می کشد در نتیجه قابلیت نفوذپذیری دیواره سلولی در برابر رنگ ها افزایش می یابد و در عین حال مواد ثابت کننده باعث می شوند که اجزای سلولی به همان شکل ساختمانی که در حالت زنده داشته باقی بمانند. یکی از ثابت کننده های مهم الکل است. اندام مورد نظر را به مدت ۲۴ ساعت در الکل اتیلیک یا الکل متیلیک قرار دهید که در این صورت الکل آب اندام ها را گرفته و آنها را برای مقطع گیری آماده می کند.

انواع رنگ آمیزی:

- رنگ آمیزی ساده: انجام رنگ آمیزی به وسیله یک رنگ
- رنگ آمیزی مضاعف: انجام رنگ آمیزی به وسیله دو نوع رنگ

رنگ آمیزی ساده:

در این روش که به منظور مطالعه چگونگی وضع یک نوع بافت بکار می رود برش تهیه شده را پس از بیرنگ کردن با آب ژاول به مدت نیم تا یک دقیقه در محلول یک رنگ ساده می گذارند. نوع بافت مورد نظر را با توجه به رنگی که گرفته است تشخیص می دهند. مثلاً بافت های چوبی یا چوب پنبه و کوتین با محلول رقیق بلودو متیلن به رنگ آبی در می آید و بر دیواره سلولزی سلول ها اثر ندارد و بافت های سلولزی با محلول قرمز کنگو به رنگ قرمز در می آیند.

رنگ آمیزی مضاعف یا مرکب:

در این روش ابتدا برش ها را در یک محلول رنگ کننده بافت چوبی و چوب پنبه ای مانند آبی متیل، سبز متیل یا فوشین قرار می دهند و سپس آن ها را با یک محلول رنگ کننده بافت سلولزی مانند کارمن زاجی یا قهوه ای بیسمارک یا قرمز کنگو رنگ می کنند. رنگ آمیزی مضاعف چند نوع است که متداول ترین روش آن در ادامه خواهد آمد.

(رنگ آمیزی ساده)

شرح آزمایش:

مواد و وسایل لازم:

دو عدد شیشه ساعت - آب مقطر - بلودو متیلن، سبزید یا فوشین آمونیاکی - تیغ برای مقطع گیری

دستور کار رنگ آمیزی:

- ۱- قرار دادن مقاطع در شیشه ساعت حاوی محلول رقیق بلودومتیلن به مدت نیم تا یک دقیقه
- ۲- شست و شو مقاطع با آب

توجه:

برای رنگ آمیزی با سبزید مقاطع را به مدت یک دقیقه در محلول سبزید ۵/۰ درصد برای رنگ آمیزی با فوشین آمونیاکی مقاطع را به مدت چند ثانیه در محلول فوشین آمونیاکی قرار داده و سپس شستشو می دهیم

نتیجه آزمایش:

۱- بلودومتیلن چوب، چوب پنبه و کوتین را آبی رنگ و بر دیواره های سلولزی سلول ها اثری ندارد.

۲- سبزید بافت های چوب، چوب پنبه و کوتین را به رنگ سبز متمایل به آبی در می آورد.

۳- فوشین آمونیاکی بافت های چوب، چوب پنبه و کوتین را به رنگ قرمز در می آورد.

(رنگ آمیزی مضاعف)

شرح آزمایش:

مواد و وسایل لازم:

نه عدد شیشه ساعت- یک عدد تیغ برای مقطع گیری - آب مقطر- آب ژاول - اسید استیک - بلودومتیلن ، سبزید یا فوشین آمونیاکی (برای تشخیص بافت های چوبی و چوب پنبه ای)- کارمن زاجی (برای تشخیص بافت های سلولزی)

دستور کار رنگ آمیزی:

در این نوع رنگ آمیزی دو دسته اصلی بافت ها (بافت های چوبی و سلولزی) از هم متمایز می شوند که برای این کار از دو رنگ استفاده می شود که یکی سلولز و دیگری چوب، چوب پنبه و کوتین را رنگ آمیزی می کند

مراحل رنگ آمیزی مضاعف:

۱- قرار دادن مقاطع میکروسکوپی (برش ها) در آب ژاول به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه (جهت رنگ بری)

۲- شستشو مقاطع با آب مقطر

۳- قرار دادن مقاطع در اسید استیک ۱٪ به مدت ۲-۱ دقیقه (بعنوان فیکساتور)

۴- شستشو مقاطع با آب مقطر

۵ - قرار دادن مقاطع در محلول سبزید یا بلودومتیلن به مدت ۲-۱ دقیقه (جهت بافت های چوبی و چوب پنبه ای و کوتینی)

۶ - شستشو مقاطع با آب مقطر

۷ - قرار دادن مقاطع در محلول کارمن زاج دار به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه (جهت پارانشیم ؛ کلانشیم ؛ آوند آبکشی و فیبر سلولزی)

۸ - شستشو مقاطع با آب مقطر

نتیجه آزمایش:

۱- سلول های دارای دیواره سلولزی مانند پارانشیم ، کلانشیم ، آوندهای آبکشی و فیبر سلولزی به وسیله کارمن زاجی به رنگ قرمز متمایل به نارنجی در می آیند.

۲- بافت های چوبی ، چوب پنبه ای و کوتینی توسط سبزید یا بلودومتیلن به رنگ سبز یا آبی متمایل به سبز در می آیند.

توجه:

۱- علت قرار دادن برش هادر آب ژاول از آن جهت انجام می شود که از خاصیت رنگ بری این ماده استفاده شود تا نور بتواند از بافت های رنگی نمونه عبور کند.

۲- چون این ماده دارای خاصیت قلیائی بوده برای رفع این مشکل (خنثی کردن اثر آب ژاول) برش ها را به مدت ۲ الی ۳ دقیقه در اسید استیک می خوابانیم.

۳- از مرحله اول تا انتهای مرحله پنجم رنگ آمیزی ساده و از مرحله اول تا انتهای مرحله هفتم رنگ آمیزی مضاعف نامیده می شود .

تنظیم : علیرضا زارع

معاونت اجرایی پژوهشسرای امام رضا (ع)