நுண்ம நுட்பங்கள்
(Microtechniques)

நிலைப்படுத்துதல் (Fixation)

விளக்கம்

தாவரச் செல்களும் திசுக்களும் எவ்வாறு வாழும்பொழுது அவை இருந்ததோ அவ்வமைப்பை அப்படியே பதனமாக பாவிக்கும் முறை நிலைப்படுத்துதல் எனப்படும்.

கொல்லுதல் (Killing)

கொல்லுதல் என்ற சொல் உயிரியத்தின் வாழ்வு முறையை திடீரென தடைப்படுத்துவதாகும். அதாவது, திசுக்களின் செல்கள் தமது செயல்முறையை முற்றிலும் இழந்து விடுகின்றன. இருப்பினும், செல்கள், திசுக்கள், உறுப்புகள் போன்றவற்றின் உருவமைப்புகளும் உள்ளமைப்புகளும் உருக்குலையாமல் நிலைபெறுகின்றன.

தரமிக்க ஒரு நிலைப்படுத்தி (Fixative) செல்லின் வேதி வினைகளையும் செல்லமைப்பையும் மிக நேர்த்தியாக பதனமடையச் செய்கிறது (Preserved).

தாவர உறுப்புகளை கொல்லுதல் மற்றும் நிலைப்படுத்துதலின் முக்கியத்துவம் (Importance of Killing and fixation)

1) சேகரிக்கப்பட்ட தாவர உறுப்புகளை அவை வாழும் பொழுதே உடனடியாகப் பதனப்படுத்தி விடுவதால் அவ்வுறுப்புகளின் உருவளவும் (Form) வடிவளவும் (Size) மாறாமல் தக்கவைக்க முடிகின்றன. 2) இவ்வாறு பதனமாக்கிய உறுப்புகள் எதிர்கால பயன்பாடுகளுக்காக வைக்கக் கொள்ள முடிகின்றன. 3) குறிப்பிட்ட தாவரப் பொருட்கள் (Material) குறிப்பிட்ட பருவத்தில் மட்டுமே கிடைக்கின்றன. எனவே, பதனமாக்கிய அப்பொருட்களை

வருடம் பூராவும் பயன்படுத்திக் கொள்ள முடியும். 4) இந்நுட்பத்தின் வாயிலாக தாவரப் பாகங்களின் உள்ளமைப்பு, நிச்சயமாக நேர்த்தியான தரத்தைக் கொடுக்கிறது. 5) நிலைப்படுத்தப்பட்ட பொருட்கள் மிக நன்றாக கறையேறிக் கொள்கின்றன (Well Stained). 6) கடினப்பொருட்கள் (Hard Materials) மிக மென்மையாகவும் அமைகின்றன.

நிலைப்படுத்துதலின் நியமங்கள் (Principles of Fixation)

நிலைப்படுத்துதல் என்பது உயிரியல் மாதிரிக் கூறுகளைக் (Biological Specimens) கொல்லுவதுடன் அதே வேளையில் அவற்றின் பண்புகளை விடாது தக்கவைக்கும் (Retain) முறை என்பதை ஏற்கனவே அறிந்தோம். நிலைப்படுத்துதல் என்ற சொல்லின் பொருள் உயிரியற் செயல்பாட்டினை (Biological Activities) திடீரென தடுத்து நிறுத்தி, நிரந்தரமான முடிவு கட்டுவதாகும். இந்நிலைப்படுத்துதல் மூலம் தாவர உறுப்புகள் அழுகாமல், சிதையாமல், உலராமல் தடுத்து நிறுத்தப்படுகின்றன. நிலைப்படுத்திய தாவர உறுப்பிலுள்ள சைட்டோபிளாசம் நியுக்ளியஸ், செல்சுவர் முதலியன நிலைப்படுத்துவதற்கு முன் எவ்வாறு இருந்ததோ அதே போல வடிவத்திலும் அமைவிலும் (Position) விடாது தக்க வைக்கப்படுகின்றன.

நிலைப்படுத்துதலின் விளைவுகள் (Effects of Fixation)

நிலைப்படுத்துதலில் இரு விளைவுகள் தோன்றுகின்றன.

1) சுருங்கு விளைவு (Shrinking Effect)
2) மாறான/பெரிதாக்கும் விளைவு (Contrast or Enlarging effect)

ஒரு சில நிலைப்படுத்தும் காரணிகள் உறுப்புகளினுள்ளே செல்சுருக்கங்களை ஏற்படுத்துகின்றன. இன்னும் சில காரணிகள் நிலைப்படுத்திய உறுப்புகளை உப்பல் (Inflated) ஆக்கிவிடுகின்றன. அதாவது, நிலைப்படுத்துவதற்கு முன்பிருந்த பாகத்தின் அளவு நிலைப்படுத்தப்பட்ட பின்பு உருபெருத்துப் போகிறது. முறைப்படியாக தாவரப்பொருட்களை பதனப்படுத்துவதற்கு பல எதிர்க்காரணிகள் (Reagents) இன்று பயன்படுத்தப்பட்டு வருகின்றன.

நிலைப்படுத்திகள் (Fixatives)

நிலைப்படுத்தும் காரணிகளும் கடினமேற்றும் காரணிகளும்

ஒன்றாகச் சேர்த்து ஒரு கரைசலாக (Solution) கிடைக்கின்றன. இக்கரைசல் நிலைப்படுத்தி என அழைக்கப்படுகிறது. ஒரு சீர்மிகு நிலைப்படுத்தி (Ideal Fixative) என்பது உறுப்பில் சுருக்கத்தையோ அல்லது உப்பலையோ ஏற்படுத்துவதாக இருக்கக் கூடாது. பார்மலின் என்ற நிலைப்படுத்தி உறுப்பு சிறுத்துபோவதற்கு காரணமாகிறது. அசிட்டிக் அமிலம் உறுப்பு உப்பிக் கொள்வதற்கு ஏதுவாகிறது. எனவே, தனித்தனியாக இந்நிலைப்படுத்திகளை பாவிக்கும் பொழுது பாதகம் ஏற்படுகிறது. இவை இரண்டையும் ஒன்றாகச் சேர்த்து பயன்படுத்தினால் ஒரு சீர்மிகு நிலைப்படுத்தியாகச் செயல்படுகின்றன. இவ்விரு காரணிகளையும் சமவீதத்தில் சேர்த்து கவனமாகப் பயன்படுத்த வேண்டும். சிறுத்து போவதற்கு H-CHO, உப்பிக்கொள்வதற்கு CH_3COOA பொறுப்பாகின்றன. இவை இரண்டும் விதிப்படியாக கலக்கினால் மேற்கண்ட இடர் ஏற்படுவதில்லை.

பார்மலின், அசிட்டிக் அமிலம், ப்ரோப்பியானிக் அமிலம், ஈத்தைல் ஆல்கஹால், பூட்டனால், குரோமிக் அமிலம், பிக்ரிக் அமிலம், குளோரோபார்ம், குப்ரிக் அமிலம், அமோனியம் டைக்குரோமேட், பொட்டாசியம் டைக்குரோமேட் ஆகியன நிலைப்படுத்திகளாக பயன்பாட்டில் இருந்து வருகின்றன.

ஆஸ்மியம் டெட்ராக்சைடு - பார்மால்டிஹைடு, பொட்டாசியம் பர்மாங்கனேட், பொட்டாசியம் பாஸ்போ டங்க்ஸ்டேட் ஆகியன எலெக்ட்ரான் நுண்ணோக்கிகளுக்கு சிறந்த நிலைப்படுத்திகளாகப் பயன்பட்டு வருகின்றன. இத்தகு நிலைப்படுத்திகள் எலக்ட்ரான் நுண்ணோக்கியின் ஆய்வுகளில் அவைகளாகவே கறைகளாகச் செயல்படுகின்றன.

நிலைப்படுத்தும் பிம்பங்கள் (உருவங்கள்) (Fixative Images)

நிலைப்படுத்தும் பிம்பங்கள் இரு வகைப்படுகின்றன. அவைகளாவன,

1) அமில நிலைப்பாட்டுப் பிம்பங்கள் (Acid Fixation Images)

2) கார நிலைப்பாட்டு பிம்பங்கள் (Basic Fixation Images)

1. அமில நிலைப்படுத்தும் பிம்பங்கள் மூலம் நியூக்ளியசிலுள்ள குரோமேட்டின் இழைகள், நியூக்ளியோலஸ், ஸ்பிண்டில் நாரிழைகள் (Spindle fibres) ஆகியன நன்கு பதனமடைகின்றன. சைட்டோபிளாசம் ஸ்பாஞ்சு (Spongy) போல நிலைப்படுகிறது. நியூக்ளியோபிளாசம்,

மைட்டோகாண்ட்ரியங்கள் கரைந்து மறைகின்றன. அமில நிலைப்பாட்டு பிம்பத்திற்கு எடுத்துக்காட்டாக கார்னாய்ஸ் பாய்மம் (fluid), பார்மலின் அசிட்டிக் அமிலம் (FAA) ஆகியவற்றைக் கூறலாம்.

2. கார நிலைப்பாட்டு பிம்பங்கள்

இம்முறையின் மூலம் செல்லின் மைட்டோகாண்ட்ரியங்களும் நியூக்ளியோப்ளாசமும் நன்கு பதனமடைகின்றன. இருப்பினும் குரோமேட்டின் நாரிழைகள், ஸ்பிண்டில் நாரிழைகள் கரைந்து மறைந்து போகின்றன. சைட்டோபிளாசமும் ஹையலோபிளாசமாக நிலைபடுகிறது. வர்க்யூல்கள் ஒரளவே பதனமடைகின்றன.

கார நிலைப்பாட்டு பிம்பத்திற்கான கலவைகள்

எ.கா. 1) செர்க்கிள் - எர்லிச்பாய்மம் (Zirkle - Erlike fluid).

2) செர்க்கிள்ஸ் குறைப்புற்ற குரோமிக் பாய்மம் (zirkles reduced chromic fluid)

முன்னிலைப்படுத்திகள் (Prefixatives)

இவையும் நிலைப்படுத்தும் காரணிகளாகப் பயன்படுகின்றன. வழக்கமான நிலைப்படுத்திகள் பயன்படுத்துவதற்கு முன்னர் செல்லியல் ஆய்வுகளுக்கு இவை பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

(I) கடகங்களின் சேகரிப்பு (Procurement of container)

மாதிரியின் உருவகை (Specimen sample)

அ) பற்பல வகை மாதிரிக் குழாய்கள்

ஆ) திருகாணி மூடியுடன் உருவகைக்கான புட்டிகள் (Specimen bottles with screw caps)

(II) வேதிப்பொருட்களை எடையிடுவதற்கான தராசுகள்

(III) பாய்மங்களை (fluids) அளவிடுவதற்கான அளவீட்டு உருளை (Measuring Cylinder)

(IV) குறிப்பிடுதல் (Labelling)

மாதிரிப் பெட்டிகளில் முற்றபடியான குறிப்புச் சீட்டை ஒட்ட வேண்டும் அல்லது கட்டித் தொங்கவிட வேண்டும் அல்லது கண்ணாடியில் குறிக்க உதவும் பேனாவால் குறித்து வைக்கலாம். பொருட்களின் விவரத்தை குறிப்புச் சீட்டு தெளிவாகக் காட்ட வேண்டும்.

(V) தாவர உறுப்புகளின் புறப்பரப்பில் மயிர் போன்ற வளரிகள் இருக்குமேயானால் அவற்றைக் கத்தரித்து (Trimmed) நீக்கி ஒழுங்கு செய்ய வேண்டும். ஏனெனில், அடர்ந்திருக்கும் ட்ரைகோம்கள் (Trichomes) நிலைப்படுத்தியின் ஊடுருவலை தடுத்து நிறுத்திவிடும்.

(VI) கடினப்பாகமாக இருக்குமாயின் அதனை முடிந்தளவு நறுக்கி துண்டுகளாகச் சேகரித்துக் கொள்ள வேண்டும்.

(VII) கடினப் பொருளாக இருப்பின் அதன் புறப்பரப்பை மேலுரிப்பு (Scarification) செய்ய வேண்டும்.

(VIII) மென் தாவரத் துண்டங்கள் அல்லது நீர்வாழ்த் தாவரத் துண்டங்களாக இருப்பின், அவை நிலைப்படுத்தியினுள் மூழ்கி விடுவதில்லை. எனவே, பாகங்களினுள் இருக்கும் காற்றை அகற்றுவது அவசியம். இதற்காக, காற்றேமுப்பி (Aspirator) அல்லது மென்னுறுஞ்சிப் பம்பு (Mild suction pump) உதவி கொண்டு செய்து முடிக்கப்படுகிறது. இச்செயலின் பொழுது தாவர உறுப்பு காயம் படக்கூடாது.

(IX) நிலைப்படுத்தியினுள் போடும் முன்னர் உறுப்புகளில் மண்துகள், சகதிகள் போன்ற அசுத்தங்களை அகற்றி நன்கு கழுவிய பின் கடாசத்தில் மூழ்க வைக்க வேண்டும்.

(X) நிலைப்படுத்துதலுக்குப்பின்பு நிலைப்படுத்தியை உறுப்பிலிருந்து நீக்க வேண்டும். சிறிதளவு நிலைப்படுத்தி (Fixative) அவ்வுறுப்பினுள் ஒட்டியிருந்தாலும் கூட அது கறையேற்றத்திற்கு (Staining) தடங்கலாக (Hamper / hinder) அமைந்துவிடும். எடுத்துக்காட்டாக; பொவின் பாய்மத்தில் (Bovins Fluid) பிக்ரிக்அமிலம் உள்ளது. இவ்வமிலம் சேர்க்கப்படும் சகலக் கறைகளையும் நீக்கிவிடுகிறது. இது வெளிர்விக்கும் (Bleaching) திறன் கொண்டது. நிலைப்படுத்தியில் மக்னீசியம் குளோரைடு இருக்குமானால், அதையும் நீக்கிவிட வேண்டும். இதற்காக, லூகால்ஸ் அயோடின் பாய்மத்தைப் பயன்படுத்த வேண்டும்.

நீர்மமகற்றம் (Dehydration)

நிலைப்படுத்தப்பட்ட பாகங்களில் இருக்கும் நீர்மக் கூறினை நீக்கும் செயல்முறை நீர்மமகற்றம் எனப்படும். இந்நுட்பத்தின் மூலம் தாவரப் பாகங்கள் கடினமாகவும் (Hard) திடமாகவும் (Firm) முறியத்தக்கதாகவும் (brittle) அடைகின்றன. தாவரத் துண்டிலுள்ள நீர்மக் கூறினை முற்றிலும் அகற்றிய பின்னரே மைக்ரோடோமில் (Microtome) அத்துண்டத்தை எளிதாகக் கூறுபாடாக்க (Sectioned) முடியும். நீர்ம மகற்றும் காரணிகளடங்கிய கரைசல் (Solution) வரிசைகளில் (Series) உறுப்புகளைப் போடுவதால் நீர்மம் அகற்றுவது சாத்தியமாகிறது. நீர்மமகற்றம் படிப்படியாக செய்து முடிக்க வேண்டிய நுட்பம். திடீரென நீர்மம் இறக்கம் ஏற்படுத்தினால் அத்துண்டு துணுக்குள் சிறுத்துப்போவதுடன் அதன் செல்களும் சேதாரமாகி விடுகின்றன.

நீர்மமகற்றம் இருவகைப்படுகிறது.

முதல் படியாக, பேரவ்லின் என்ற கரைதிறமற்ற பேரவின்னிலும் (Non solvent paraffin) பின்பு கரைதிறமுடைய பேரவின்னுலும் இப்பொருள்கள் (உறுப்புகள்) படிப்படியாக வரிசையாக மாற்றப்படுகின்றன. எ.கா. ஆல்கஹால்.

நீர்மமகற்றத்தின் இரண்டாம் வகையாக நீர்ம நீக்கும் பேரவ்லின் (Dehydrant paraffin) கரைப்பானாகப் (Solvent) பயன்படுகிறது. எ.கா. பூட்டனால் கோவை (Butonal Series)

தெளிவாக்கும் (Clearing)

நீர்மமகற்றிய பின் தெளிவாக்கம் மேற்கொள்ளப்படுகிறது. பேரவ்லின் போன்ற கரையாத்திறன் கொண்ட கரைசலாக இருந்தால் இம்முறையை பின்பற்றுவது மிக அவசியம். தெளிவாக்கம் என்பது உறுப்பினுள்ளே எஞ்சியிருக்கும் ஆல்கஹாலை அகற்றும் நுட்பமாகும். இதற்காக, பல்வேறு தெளிவாக்கும் காரணிகள் (Clearing Agents) உள்ளன. இவற்றில் சைலின் / சைலால் (Xyhin / Xylol) எனும் காரணி பெரும்பாலும் பயன்பட்டுவருகிறது. குளோரோபாம், ட்ரைக்குளோரோஎத்திலின் போன்றவைகளும் தெளிவாக்கத்திற்கு பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

பொதுவாக, தெளிவாக்கும் காரணிகள் தாவரத் துண்டு துணுக்குகளை எளிதில் முறியத்தக்கதாக (Brittle) ஆக்குகின்றன. ஆல்கஹாலிலிருந்து சைலாலுக்கு மாற்றிய பிறகு துளித்துளி / சொட்டு முறை

Drop Method) பின்பற்றப்படுகிறது. இரண்டாவது மாற்றமாக 100%
ஆல்கஹாலுக்குப் பின் துளித்துளியாகச் சைலால் சேர்க்கப்படும் அதே
வளையில் துளிகளின் எண்ணிக்கையினை படிப்படியாக அதிகரிக்க
வேண்டும். தாவரக் கூறுகள் கடினமானதாக இருப்பின் இத்துளி முறை
பின்பற்றத் தேவையில்லை.

கோவை/வரிசை

75% ஆல்கஹால்	25% சைலால்
50% ஆல்கஹால்	50% சைலால்
25% ஆல்கஹால்	75% சைலால்
0% ஆல்கஹால்	100% சைலால்

மேற்கண்ட செயல்முறைக் கோவை (Series)
தெளிவாக்கத்திற்காகவே பின்பற்றப்படுகிறது.

பேரஃபினில் பதித்தல் (Paraffin Embedding)

திசுக்களைப் பதிப்பதற்கு பேரஃபின் ஒரு வார்ப்புரு (Matrix)
போன்ற பணியைச் செய்கிறது. இது மைக்ரோடோமில் பொருத்திய கத்தியுடன்
(Knife) மோதலை (Impact) தடுப்பதுடன் தாவரத்துண்டம் கூறுபாடுற்ற (Sec-
tioned) பிறகு ஒன்றுடன் ஒன்று தொடர்ந்து வரிசையாக வருவதற்கான
இணைப்பை ஏற்படுத்துகிறது. இதற்காகவே. பேரஃபின் படிப்படியாக
திசுவினுள் ஊடுரவச் (Infiltration) செய்யப்படுகிறது. இவ்வூடுருவல்
நிதானமாகவும் முறைப்படியாகவும் மேற்கொள்ளப்படுகிறது. இறுத்தெடுப்பதற்கு
(Infiltration) பேரஃபின் சிறுசிறு சீவல்களாக (Chips) அல்லது சொரய்களாக
(Shavings) சேர்க்கப்படுகிறது. முதலில் போட்ட சீவல் நன்கு கரைந்த
பின்னரே அடுத்த பேரஃபின் சீவல்கள் சேர்க்கப்படவேண்டும்.

பேரஃபினுடன் கரைப்பான் (Solvent) முழுமையாகப்
பூரிதமடைந்த பின்னர் இந்த உருமாதிரிக் குழாய், தெர்மோஸ்டாட்டில் (Ther-
mostat) வைக்கப்படுகிறது. இதனால், விளையும் கரைப்பான் இறுத்து
நீக்கப்படுகிறது. பின்பு புதிய பேரஃபின் சீவல்கள் சேர்க்கப்படுகின்றன.
கரைப்பானை மொத்தமாகக் கழித்தகற்றுவதற்கு (Eliminate) இம்முறை
திரும்பத்திரும்ப செய்யப்படுகிறது. இந்நிலையிலும் வாசனை எழுந்தால்
கரைப்பான் இன்னமும் நீங்கவில்லை என்பதைக் காட்டுகிறது. எனவே,
வாசனை முற்றிலும் அகலும்வரை சீவல் சேர்த்து இறுத்துக்கொண்டே இருக்க
வேண்டும்.

நல்ல பதிப்பு ஊடகமாக பேரஃபின் உதவுவதற்கான நிபந்தனைகள்
(Conditions for paraffin to serve as good embedding medium)

1) பேரஃபின் நிலையானதும் தெரிந்த உருகுநிலையினையும்
(Melting point) கொண்டிருக்க வேண்டும். இதன் உருகுநிலை 56 - 62 செ.
இருக்க வேண்டும். BDH அல்லது சாராபாய் (Sarabai) வேதிப் பொருட்களை
ஆய்வுக்கூட பயன்பாடுகளுக்கு உபயோகிப்பது நல்லது. 2) போதுமான
கடினத்தன்மையை இது பெற்றிருக்க வேண்டும். 3) இதன் தன்மை
வழவழப்பாகவும் சீராகவும் படிகம் அல்லது குருணைகள் குறைந்திருக்க
வேண்டும். தரமிக்க பேரஃபினை உருக வைத்து ஒரே சீராக குளிர வைத்து
பின்பு பதிமைக்கு (பதித்தலுக்கு) பொருந்தமானதாக ஆக்கிக் கொள்ள
வேண்டும். 4) பேரஃபினில் தூசித்துகள், நீர்த்துளிகள், எண்ணெய்த் துளிகள்
எளிதில் ஆவியாகும் (Volatile) பொருட்கள் இல்லாமல் (Devoid) இருக்க
வேண்டும்.

பாளம் தயாரிப்பு (Block Making)

பேரஃபின் உட்புகுப்பிற்குப் பின்னர் இம்முறை
மேற்கொள்ளப்படுகிறது. இதற்காக, காகிதப் படகுகள் (Paper Boats), கயாக்
செய்ய வேண்டும். அட்டைத்தாள் பெட்டி (Card Board Box) அல்லது
தீப்பெட்டி (Match Box) போன்றவற்றையும் பயன்படுத்த முடியும். உலையில்
வைத்த புட்டிகள் (Bottles) அல்லது கடகங்கள் (Containers)
கொதிநிலையில் வெளியே எடுக்கப்படுகின்றன. இக்கடகத்தை நன்கு குலுக்கி
விடுவதால் (Shaking) தாவரத் துண்டுகள் அல்லது கூறுகள் அடித்தளத்தை
அடைகின்றன. வெதும்பிய பேரஃபினுடன் சேர்த்து தாவரக்கூறுகள் படகுகள்
(Boat) கொட்டப்படுகின்றன. தேவைப்படின் சேமிப்புக் கடகத்திலிருந்து
(Stock Container) உருகிய பேரஃபினையும் சேர்த்துக் கொள்ளலாம்.
வெப்பப்படுத்திய ஊசியின் நுனி கொண்டு சீராகக் கூறுகள் முறைப்படி
வரிசைப்படுத்தப்படுகின்றன. பதித்து வைப்பதற்காக தட்டு (Tray) ஒன்று
வெப்பநிலைக்கு கொண்டுவரப்பட்டு பின் வெப்பத்தட்டை (Hot Plate) பயன்படுத்த
வேண்டும். இத்தட்டை பயன்படுத்தும்பொழுது வெறுமனே வெப்பமேற்றுவதை

விரிக்க வேண்டும். அதே சமயம் அவ்வெப்பம் குறைந்தாலும் மெழுகு அரக்கு உருகாமல் இருக்க ... முடியாது என்பதை முன்பே கொள்ள வேண்டும். இவ்வாறு அமைத்த பிறகு இப்படுக்குகள் குளிர்விக்கப்பட வேண்டும். இதற்காக அறை வெப்பநிலையில் வைக்கப்படுகிறது, காகிதப் பெட்டிகள் மேல்மேற்றுதலுக்காக ஐஸ் நீரில் (Ice Water) மிதக்க விடப்படுகின்றன. பின்பு நீரில் மூழ்க வைக்கப்படுகின்றன. இறுதியாக, அட்டைப் பெட்டி (Car Board Box) பாளத்திலிருந்து (Block) பிரித்து அப்புறப்படுத்தப்படுகிறது (Disposed).

மைக்ரோடோமில் கூறுபடுத்துதல் (Microtoming)

வகை - சுழல் மைக்ரோடோம் (Rotary Microtome)

தகுந்த பிளேடு அல்லது ஸ்கால்பெல் (Scal Pal) உதவியாக இறுகிக் கட்டியாக்கிய பாளம் நறுக்கி சிறுசிறு பாளங்களாக (Small Blocks) தயாரிக்கப்படுகிறது. இப்பொழுது ஒவ்வொரு சிறு பாளத்திலும் ஒரு தாவரத் துண்டம் மட்டும் இருக்கிறது. பின்பு இத்துண்டம் சீராக செதுக்கி ஒரு கட்டைப் பாளத்தின் (Wood Block) மீது பொருத்தப்படுகிறது. கண்ணாடித் துண்டத்திற்கு இணையாக சரியாக அமையும் வரை இந்த அரக்குப்பாளம் (Wax Block) செதுக்கி சீவி செம்மையாக்கப்படுகிறது. கட்டைப் பாளத்துடன் பொருத்தப்பட்ட அரக்குபாளத்தை இப்பொழுது சுழல் மைக்ரோடோமில் சொருகி நிலைப்படுத்தப்படுகிறது. மிக இறுக்கமாக நிலைபெறுவதற்காக திருகாணி உதவி கொண்டு இறுக்கப்படுகிறது. மைக்ரோடோமில் கையாளப்படும் கத்தி (Razor) முன்னதாகவே நன்கு கூர்மையாக்கியிருக்க வேண்டும். இப்பொழுது இக்கத்தி நிமிர்வாக 60° கோணத்தில் மைக்ரோடோமில் கவனமாக பொருத்த வேண்டும். கத்தியின் கூர்மையான பகுதியுடன் பேரவ்வின் பாளத்தின் அடிமுனை கிடைமட்டத்திற்கு இணையாக இருக்க வேண்டும். பேரவ்வின் அரக்கு பாளத்தின் நுனியுடன் மிக நெருக்கமாக கத்தியின் கூர்மைக் கொண்டு வருவதற்காக கத்தியின் பிடிப்பானை (Holder) சரிசெய்ய வேண்டும். இப்பொழுது பேரவ்வின் பாளத்தின் நுனியும் கத்தியின் முனையும் ஒன்றையொன்று முறைப்படி தொட்டுக் கொண்டுள்ளன. கைப்பிடி (Handle) மூலம் இயக்குவதால் பேரவ்வின் பாளம் மேலும் கீழும் நகரும்பொழுது ரிப்பன் வடிவ தாவர நுண்மக்கூறுபாடுகள் (Micro Sections) பெறப்படுகின்றன. இவ்வாறு பெறப்படும் ரிப்பன் நேர்வாகவும் துண்டிக்காமலும் இருக்க வேண்டும். இவ்வாறு இல்லாமல் ரிப்பன் வளைந்து, திருகி, நெளிந்து காணப்பட்டால் பேரவ்வின் பாளத்தின் எதிர்முனைகளில் ஒரு பக்கம்

இணையாக இல்லை என்பதைக் காட்டுகின்றன. இதனை சரிசெய்வதற்காக பாளத்தை மேலும் செதுக்கி செம்மைப்படுத்த வேண்டும்.

பொருத்துதல் (ஒருங்குவித்தல்) (Mounting)

ஒரு பிளேடு (blade) நீள அளவில் ரிப்பன் துண்டிக்கப்பட்டு கண்ணாடித் துண்டத்தில் (Slide) பொருத்தப்படுகிறது. ரிப்பனை பிடிப்பதற்கு தட்டையான கருவியினை பயன்படுத்த வேண்டும். மடிப்புற்ற (Folding) முழுமையற்ற (Incomplete) கூறுபாடில்லா ஒட்டையான ரிப்பனை அகற்றி விட வேண்டும். தகுந்த ஒட்டுப்பசை (Suitable adhesive) உதவியால் ரிப்பன் துண்டத்தின் மீது இணைக்கப்படுகிறது.

முறையாக கண்ணாடித்துண்டத்தில் ரிப்பன் ஒட்டிக்கொள்வதற்கு வெப்பம் வேண்டப்படுகிறது. இதற்காக, கதகதப்பூட்டும் தட்டின் (warming plate) 40 - 45° செ. வெப்பத்தில் இத்துண்டம் வைத்து பராமரிக்கப்படுகிறது. ஹாப்டின் ஒட்டுப்பசை (Haupt's adhesive) பயன்படுத்தும்பொழுது 4% பார்மலின் கலந்த நீரில் ரிப்பனை விரித்துப்பரப்ப வேண்டும்.

ஒட்டுப்பசையேற்றிய பின்பு கடினமாக்குவதற்கு (hardening) துண்டம் அனுமதிக்கப்படுகிறது. எனவே, கறையேற்றும் காரணிகளினுள்ளே கரையாத்திறன் இது பெற்றுவிடும். இந்நிலையில் மட்டுமே பொருத்தி வைக்க வேண்டும். மேயர் ஒட்டுப்பசையினைக் கூட (Mayer's adhesive) பொருத்துதலுக்கு பயன்படுத்தலாம்.

கறைகளும் கறையேற்றங்களும் (Stains and Staining) (2)

(கறையேற்றம் என்பது சாயங்களைப் (Dyes) பயன்படுத்தும் ஒருவகை சாயமேற்றம் என்றும் கூறலாம். இச்சாயம் உறுப்பிலுள்ள பல்வேறு திசுக்களை வேறுபடுத்திக் காட்டுகிறது. இதன்மூலம் நிறமுற்ற, நிறமுற்ற திசுவகைகளை இன்னதெனக் கண்டறிய முடிகிறது.)

ஒவ்வொரு வகைத் திசுவிற்கும்/செல்கூறுக்கும் அவற்றிற்கென்ற இரசாயன/இயற்பியல் பண்புகள் உண்டு. இப்பண்புகளுக்கேற்ப வெவ்வேறு திசுக்கள் வெவ்வேறு சாயங்களை ஈர்த்து, வினையுற்று கண்ணைக்கவரும் வண்ணத்தில் பிரகாசிக்கின்றன. இதன் காரணமாக கொடுக்கப்பட்ட தாவரக்கூறுகளின் வெவ்வேறு நிறங்கள் ஒழுங்கான முறையில் தோன்றுகின்றன. கறைகளின் தயாரிப்பு, ஆய்வு செய்தல், பயன்பாடு போன்றவை திசுவியலில் (Histology) தனிப்பெரும் சிறப்பு பெற்றுள்ளன.

விட் (1876) என்பவரது கூற்றுப்படி ஒரு வேதியியல் பொருளிலுள்ள நிறம், ஒரு தொகுதியின் (Group) முன்னிலையை அல்லது ரேடிகிளைக் (Radical) குறிக்கிறது. முன்னிலையாக அமையும் இத்தொகுதிகள் வண்ணந்தாங்கிகள் (Chromophors) என அழைக்கப்படுகின்றன. தாவரக் கூறுகளிலிருக்கும் இத்தகு பொருட்கள் வண்ணமூக்கிகள் (Chromogens) எனப்படுகின்றன. பிற பொருட்களுக்கு இந்நிறம் பங்களிப்பதற்கான (Imparting) ஆற்றல் ஆக்ஸோகுரோம் (Auxocnrome) முன்னிலையால் வண்ணமூக்கிக்குக் கொடுக்கப்படுகிறது. ஆக்ஸோகுரோம்கள் அமில அல்லது கார ரேடிகிள்களாக (Radicals) இருக்கலாம். இவை கறைகள் கரைவதற்கான திறனை ஏற்படுத்துகின்றன.

ஒரு குறிப்பிட்ட அமைப்பில் நிறம் நீங்காமல் இருப்பதற்கான காரணங்கள்

Reasons for colour remains on a particular structure)

1) புறப்பரப்பு ஒட்டீர்ப்பால் (adsorption) அயனியுற்ற கறை, கூறுகளின் மீது வீழ்படிவுற்றதாகி விடுகிறது.

2) திசுவிற்கும் சாயத்திற்கும் இடையே நிச்சயமான வேதியியல் ஒருங்கிணைப்பு நிகழ்கிறது.

3) முதல்படியாக திசுவானது ஒருவகைப் பொருளை உறிஞ்சுகிறது. ஈர்க்கப்பட்ட பின்பு அச்சாயம் கரையாச் சேர்மமாக மாறி விடுகிறது. இவ்வித வேதிப்பொருட்கள் மார்டேண்ட் (Mordant) என அழைக்கப்படுகிறது.

வேதியியல் தன்மைக்கேற்ப பல வகைச் சாயங்கள் பயன்பாட்டில் உள்ளன. அவைகளாவன 1. பிக்ரிக் அமிலம், 2. ஆரஞ்சு ஜி, 3. அலிஸாரின், 4. மெத்திலின் புளு, 5. ஸாப்ரனின், 6. இளம்பச்சை (Light green), 7. திடப்பச்சை (Fast green), 8. பேசிக் பக்சின் (Basic Fuchsin), எரித்ரோசின், ஈயோசின், அனிலின் புளு, காட்டன் புளு, காங்கோ ரெட், கிரிஸ்டல் வயலெட், கார்மின், ஹெமட்டோசைலின்.

பல்வேறுபட்ட நியமங்களை (Principles) அடிப்படையாகக் கொண்டு கறைகள் பல்வேறு வகைப்படுத்தப்பட்டுள்ளன.

அட்டவணையைப் பார்க்க.

கறைகள் இரு வகைப்படுகின்றன. 1) தற்காலிகக் கறை, 2) நிரந்தரக் கறை (temporary and permanent stains). தற்காலிகக் கறை [illegible] பல நாட்களில் மங்கிப்போய்விடுகிறது. எ.கா. மெத்திலின் புளு, இயோசின் முதலியன. நிரந்தரக் கறை பல வருடங்கள் நிறம் நீங்காமல் காணப்படுகிறது. கூறுபாட்டிற்கும் (sectioning) பாதிப்பு ஏற்படுத்துவதில்லை. எ.கா. இரும்பு, ஹிமட்டோசைலின், சாப்ரனின் முதலியன.

செல்லில் கறையேறும் இயல்பு (Staining Property of cell).

செல்கள் அல்லது செல்லின் பாகங்கள் காரச் சாயத்துடன் வளமாகக் கறையேறிக்கொள்கின்றன. இக்கறைகள் கார நாட்டக் கறைகள் (Basophilic Stains) எனப்படும். எப்பாகங்கள் அமில சாயங்களை தக்க வைத்துக் கொள்கிறதோ அவை அமில நாட்டக் கறைகள் (Acidophilic Staines) எனப்படும். செல்சுவரும், நியூக்ளியசும் கார நாட்டக் கறைகள் ஆகும். சைட்டோபிளாசம் அமில நாட்டக்கறையாகும்.

கறையகற்றம் (Destaining)

தாவரக் கூறுபாடுகள் (Sections) போதுமான கறையினை ஏற்றுக் கொள்ளலாம் அல்லது மிகையாகவோ அல்லது குறைவாகவோ ஏற்றுக்கொள்ளலாம். கொடுக்கப்பட்ட கால அளவில் சில கறைகள் (Stains) உடனடியாக கறையேறிக் கொள்கின்றன (Stained) அல்லது குறைகாலத்தில் வெகுவான கறைகள் ஈர்க்கப்பட்டு நிறமேற்றமடைந்து விடுகின்றன. எனவே, பொருத்தமான நிறம் பெறுவதற்கு கறையகற்றம் தேவையாகி விடுகிறது. இந்நுட்பம் மிகு கறையினை அகற்றும் முறை எனப்படும். இப்படி கறையகற்றம் செய்யும்பொழுது செல்லில் தகுந்தளவு (Adequate) கறை, பிணைப்பிலக்கில் இருக்குமாறு கவனித்துக் கொள்ள வேண்டும். ஹெமட்டோசைலின், சாப்ரனின் போன்றவை குறைவான நேரத்தில் வெகுவான கறையினை ஈர்த்துக் கொள்வதால் இவைகளுக்கு கறையகற்றம் தேவைப்படுகிறது. நீர், பிக்ரிக் அமிலம், ஆல்கஹால், அசிட்டிக் அமிலம் ஆகியன கறையகற்றும் காரணிகளாக உதவுகின்றன.

கறையகற்றத்திற்கு ஏற்ற காரணியாக நீர் உதவுகிறது. இந்நீர் கறையீர்ப்பு இல்லாமல் நுழையாமல் இதரப் பகுதிகளில் மீந்திருக்கும் கறையினைக் கரைத்து அகற்றி விடுகிறது. எனவே, தாவரக் கூறுபாடு போதுமான கறையேற்றத்தை (optimum staining) காட்டியளிக்கிறது.

கறையேற்றத்திற்குப் பின் கண்ணாடி வில்லையைப் பொருத்துதல் (Mounting of the slide after staining)

நீர்ம நீக்கத்திற்குப்பின் பொருத்திவைப்பு (Mounting) தொடர்கிறது. இதற்காக, 70%, 80%, 95%, 100% ஆல்கஹால் மேல் தொடர்வரிசை (upseries) மேற்கொள்ளப்படுகிறது. 100% ஆல்கஹால் மேலுகோலை அடர்வில் இருமுறை இவ்வில்லை மாற்றி வைக்க வேண்டும். இதற்குப்பின் சைலால் - ஆல்கஹால் - ஆல்கஹால் வரிசையில் இருமுறை மாற்றி வைக்க வேண்டும்.

70% ஆல்கஹாலில் வைத்த பின்பும் கறை பிரிந்தால் அக்கண்ணாடித் துண்டத்தை 80% ஆல்கஹாலில் வைக்க வேண்டும். 95% அல்லது 100% ஆல்கஹாலில் எதிர்ச்சாயம் (Counter Stain) ஏற்றப்பட வேண்டும். இதற்குப்பின் இத்துண்டம் சைலால் ஆல்கஹால் கலவை, லவங்க எண்ணெய் கலவை (100% ஆல்கஹால் + Clove Oil + Xylol) ஆகியவற்றில் கழுவியெடுக்க வேண்டும். பிறகு, இத்துண்டம் சைலாலுக்கு மாற்றப்படுகிறது.

நீர்ம நீக்கம், கறையேற்றக் கால அளவைப்பொறுத்து. பொருத்திவைப்பு என்பதன் பொருள் கூறுபாட்டை (Section) கண்ணாடி வில்லையால் (Coverslip) அடைப்பதற்கு பயன்படும் பொருளினைக்குறிக்கிறது. இப்பொருள் கண்ணாடித்துண்டத்தையும் (Slide) கண்ணாடி வில்லையும் இறுக இணைக்க வைக்கிறது.

பொருத்தி வைப்பதற்கான தரமிக்க ஊடகம் - கனடா பால்சம், BDH, செயற்கை ரெசின் (Synthetic resin) முதலியன.

முழுதும் பொருத்தி வைத்தல் (Whole Mounting)

தாவர மற்றும் விலங்கினப் பாகங்களை கூறுபடுத்தாமல் (Not Sectioned) எம்மாற்றத்திற்கும் உட்படுத்தாமல் அப்பாகத்தை அப்படியே பொருத்தி வைக்கும் முறை முழுதும் பொருத்தி வைத்தல் என அழைக்கப்படுகிறது.

நீரினால் தாவர உறுப்புகள் பொருத்தி வைக்கப்பட்டால் அது நீர்வழி முழுதும் பொருத்துதல் (Water Whole Mount) எனப்படுகிறது.

கிளிசரினில் பொருத்திவைத்தல் (Glycerine Whole Mount)

இங்கு 5 - 10% கிளிசரின் தாவரப்பாகம், விலங்கினப்பாகம் பொருத்திவைக்கப்படுகிறது (Mounted). அடர்வுற்ற கிளிசரின் பாகங்களிலுள்ள செல், பிளாஸ்மா சிதைவுக்கு (Plasmolyse) உட்படுகிறது. பொருத்தி வைப்பிற்கு லேக்டோபீனாலையும் பயன்படுத்தலாம். இவ்வாய்வின் மூலம் சிறுசிறு தாவரக்கூறுகள், நுண்ம உடலங்கள் போன்றவற்றை அறுத்தாய்வு நுண்ணோக்கி (Dissection Microscope) மூலம் ஆய்வு மேற்கொள்ளப்படுகிறது.

மெலிவித்தல் (Maceration)

திசு அல்லது உறுப்பிலுள்ள ஒருங்கிணைந்த செல்களை தனித்தனி செல்களாக (Individual Cells) தனிமைப்படுத்தும் முறை மெலிவித்தல் என அழைக்கப்படுகிறது. இந்நுட்பத்தின் மூலமாக செல்லின் (3D) முப்பரிமானம் கண்டறிய முடிகிறது. இம்முறைமையை வேதியியல் செல் தனிமைப்பாடும் இயந்திரவிய (Mechanical) செல் தனிமைப்பாடும் சேர்ந்து நிறைவேற்றுகின்றன. மெலிவிப்பின் முக்கிய நோக்கமே ஒன்று சேர்ந்த செல்களிடையே இருக்கும் பொதுவான இடையடுக்கை (Middle Lamellae) கரைத்து நீக்குவதாகும்.

ஆய்வுக்குத் தேர்ந்தெடுக்கப்படும் தாவரப் பாகம் பற்குச்சியை (Tooth Pick) விட மெலிவான துணுக்குகளாக பிரித்தெடுக்க வேண்டும். உறுப்புகள் உலர்வுற்றதாக இருப்பின் ஈரக் காரணிக்காக (Wetting Agent) கொதிநீரில் போட்டு இளக வைத்து எடுக்க வேண்டும். பின்பு, கீழ்க்கண்ட மெலிவிப்பு நுட்பங்களில் ஏதேனும் ஒன்றுடன் சிகிச்சை (Treatment) செய்ய வேண்டும்.

1) ஸ்குல்ட்ஸ் முறை (Schultzes Method) 2) ஜெஃப்ரே முறை (Jeffray method) 3) ஹார்லோஸ் முறை (Harlows Method) 4) Hcl முறை.

இவற்றில் HCL முறை விளக்கப்படுகிறது.

HCL போன்ற அமிலம் இடையடுக்கின் கால்சியம் பெக்டேட்டுடன் வினையுறும் குணம் கொண்டது. இதனால், இவ்வடுக்கு கரைந்து போகிறது. ட்ரக்கீடு, வெஸல், ஸ்கிளிரன்கைமா போன்றவற்றின் முப்பரிமாணங்களை அறிந்து ஆய்வு செய்ய மெலிவிப்பு முறை உதவிகரமாக உள்ளது.

உரிப்பு நுட்பம் (Peeling Technique)

தாவர உறுப்புகளின் புறப்பரப்பை பயில்வதற்கு இந்நுட்பம் உதவுகிறது. தாவரத்தின் புறத்தோல் அடுக்கு (epidermal layer) எவ்விதத்திலும் ஊறுபடாமல் இந்நுட்பம் மூலம் உரித்தெடுக்கப்படுகிறது. பொதுவாக உரிசல்கள் (Peelings) புதிய தாவர இலையில் மட்டுமே எடுக்க முடியும். இதற்காக ஊசியை இலையின் ஒரு பக்கத்தில் நகராமல் இறுக்கிக் கொண்டு பிளேடின் நுனியை சற்றுச்சாய்வாக வைத்து சுரண்டுவதால் (Scrapping) உரிப்பு சாத்தியமாகிறது. இப்புறத்தோலில் பைம்புழைகள் (இலைத்துளைகள்) (stomata), காப்பு செல்கள் (Gourd cells), துணை செல்கள் (Subsidiary Cells) முதலியவற்றை ஆய்வு செய்வதற்கு உரிசல் தேவைப்படுகிறது. இத்தகைய பண்புகள் இனத்திற்கு இனம் வேறுபடுவதும் இயக்கம் மாறுபடுவதும் குறிப்பிடத்தக்கது. இலையின் விளிம்பு நோக்கி உரிப்பது தவிர்க்கப்பட வேண்டும். கிளை நரம்புகள் (Vein lets), மைய நரம்பு (Midrib) போன்ற பகுதிகளை உரிப்புக்குத் தவிர்க்க வேண்டும். எனவே, இரு கிளை நரம்புகளுக்கிடையே உள்ள இலைப்பரப்பினை (Lamina) மட்டும் தேர்வு செய்ய வேண்டும்.

X இப்பகுதிகள் தவிர்க்கவேண்டிய இலக்குகள்

✓ இப்பகுதி உரிப்புக்கு உரிய இலக்கு

இலையின் விளிம்பில் இலைத்துளையின் புற அமைப்பும் எண்ணிக்கையும் வேறுபட்டிருப்பதால் இவற்றின் குறியீடு (Index) மற்றும் நிகழ்வெண் (Frequency) வேறுபடுகின்றன. எனவே, விளிம்பில் எடுக்கப்படும் உரிப்பு மூலம் முழுப் பண்பையும் அறிய முடியாது. இதுபோலவே, இலைக்காம்பருகே உரிப்பதையும் தவிர்க்க வேண்டும்.

$$\text{பைம்புழை குறியீடு (Stomatal Index)} = \frac{\text{பைம்புழைகளின் எண்ணிக்கை}}{\text{பைம்புழை மற்றும் காப்பு செல்களின் எண்ணிக்கை}} \times 100$$

பைம்புழை நிகழ்வெண் = பைம்புழை எண்ணிக்கை / ஒரு பரப்பின் ஒரு பிரிவு (Unit Area)

உரிசல் எடுக்கும்பொழுது சுருளாமல், கிழியாமல் உரித்தெடுக்க வேண்டும். பைம்புழையினை தெளிவாக அறிவதற்கு ஹாரிஸ் ஹிமட்டோக்சைலின் என்ற கறை (Stain) உதவுகிறது. அல்லது பீனாலிக்

பிஸ்மார்க் பிரவுன் என்ற கறையினையும் பயன்படுத்தலாம். புறத்தோல் செல்களின் சைட்டோபிளாசம், செல்சுவர் போன்றவற்றை இக்கறை நிறமேற்றிக்காட்டுகிறது.

தற்காலிக / அரைகுன்ற நிரந்தரத்துண்டம் தயாரிப்பு (Temporary / Semipermanent Slides)

பாசி போன்ற மிகச்சிறிய மெல்லிய இழை போன்ற உடலங்களை பதித்து வைப்பதற்கு இம்முறை மேற்கொள்ளப்படுகிறது. 10% கிளிசரின் துளியினை இட்ட கண்ணாடித் துண்டத்தில் இப்பாசியின் உடலத்தை பதித்து கண்ணாடி வில்லையால் (Cover Slip) மூடப்படுகிறது. இத்தயாரிப்பு முற்றிலும் தற்காலிகமானது. ஒரு சில மணி நேரங்களில் இப்பாசியை ஆய்வு செய்த பின்னர் அப்புறப்படுத்திவிட வேண்டும்.

லாக்டோபீனால் எனும் பொருத்தி (Mountant) ஒரு மேம்பட்ட பதனியாகவும் (preservative) சிறந்த ஊடகமாகவும் (Medium) உபயோகமாகிறது. ஸ்பைரோகைரா, யுலோத்ரிக்ஸ் போன்ற இழையுடலப் பாசிகள், ரைசோபஸ், அஸ்பர் ஜில்லஸ், பெனிசில்லியம், பைட்டோப்தோரா, பித்தியம் போன்ற பூஞ்சைகள் கறையேற்றிய பின்பு இவ்வூடகத்தில் பொருத்தி வைக்க முடியும்.

இரட்டைச் சாயமேற்றும் நுட்பம் (Double Staining Precedure)

1) பதமைப்பட்ட தாவரப்பாகத்திலிருந்து தயாரித்த கைக் கூறுபாடினை (Hand Section) 30% ஆல்கஹால் கரைசலில் 30 நிமிடம் வைக்கப்படுகிறது.

2) சாப்ரின் கரைசலில் (1%) இக்கூறுபாடு இரண்டு நிமிடம் போட்டு கறையேற்றம் செய்யப்படுகிறது.

3) சாதாரண குழாய் நீரில் சில நிமிடம் இக்கூறுபாடு கழுவப்படுகின்றது (Washed).

4) நீர்மமகற்றுவதற்காக முறையே 30%, 50%, 70%, 95%, ஆல்கஹால் கோவைப்படி (Alcohol Series)) ஐந்து நிமிட வீதம் இக்கூறுபாடு மாற்றிய பின்னர் 100% நீரற்றமான ஆல்கஹாலில் 10 நிமிடம் இது வைக்கப்படுகின்றது.

5) எதிர்க்கறையான (Counter Stain) திடப்பச்சையில் (Fast green) 15 செகண்டு நேரம் சேர்த்தெடுத்த பின் 100% தூய்மையு ஆல்கஹாலில் (Absolute alcohol) இக்கூறுபாடு கழுவப்படுகிறது.

6) மிகையான திடப்பச்சையை போக்குவதற்காக 1:3, 1:1, 3:1 என்ற விகிதாச்சாரத்தில் தயாரிக்கப்பட்ட சைலாம் : ஆல்கஹால் கோவையில் (Series) முறையே 5 நிமிடம் என்ற கால அளவில் கூறுபாடு அடுத்தடுத்து மாற்றப்படுகிறது.

7) இறுதியாக தூய சைலாலில் (Pure Xylol) இக்கூறுபாடினை 10 நிமிடம் போட்டு எடுக்கப்படுகிறது. இந்நிலையில் மிகைப்படியாக படிந்த கறை (Excess Stain) முற்றிலும் நீங்கி விடுகிறது.

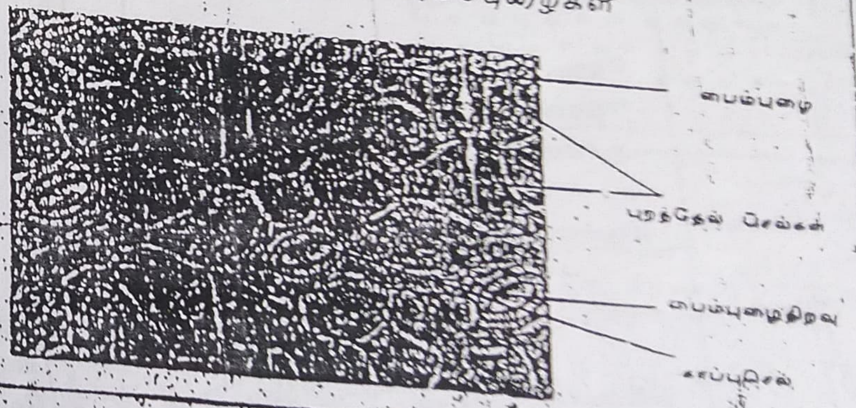
8) இறுதியாக DPXல் பொருத்தி வைக்கப்படுகிறது.

நியூக்ளியஸ், குரோமசோம்கள், லிக்னின் படிந்த செல்சுவர் ஆகியவை சாப்ரின் சாயத்தில் நிறமேறி மினுப்பான செந்நிறத்தில் (brilliant red) பிரகாசிப்பதைக் காணமுடியும். செல்லுலோஸ் வேதிப்பொருளான செல்சுவர், சைட்டோபிளாசம் ஆகியவை திடப்பச்சை நிறமுற்று பசுமையாக மிளிர்வதைக் காணமுடியும்.

சைலம், ஸ்கிளிரன்கைமா திசுக்கள் செந்நிறமாகவும் புளோயம் மற்றும் பேரன்கைமா திசுக்கள் பசுமையாகவும் தோன்றுவதால் திசு வகைகளைக் கண்டறிய முடிகிறது.

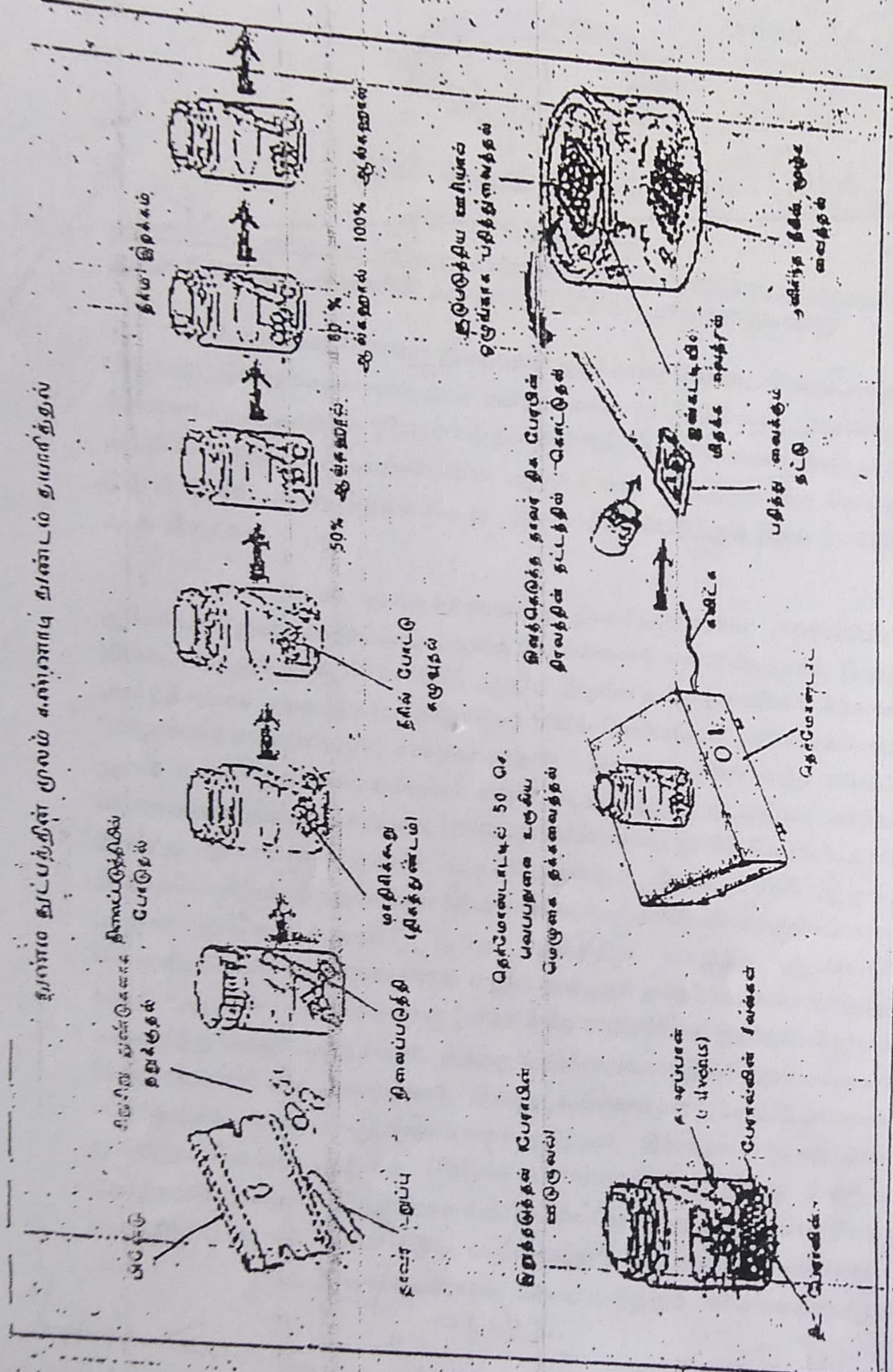
புதுமையான கைக்கூறுபாடு
↓
சாப்ரனில் கறையேற்றம் - 2 நிமிடம்
↓
நீரில் கழுவுதல்
↓
30% ஆல்கஹால் - 5 நிமிடம்
↓
50% ஆல்கஹால் - 5 நிமிடம்
↓
70% ஆல்கஹால் - 5 நிமிடம்
↓
95% ஆல்கஹால் - 10 நிமிடம்
↓
100% தூய்மையான ஆல்கஹால் - 10 நிமிடம்
↓
திடப்பச்சையில் கறையேற்றம் - 2 நிமிடம்
↓
சைலால் : ஆல்கஹால்
↓
1 : 3 - 5 நிமிடம்
↓
சைலால் : ஆல்கஹால்
↓
1 : 1 - 5 நிமிடம்
↓
சைலால் : ஆல்கஹால்
↓
3 : 1 - 5 நிமிடம்
↓
தூய சைலால் - 10 நிமிடம்
↓
DPX ல் பொருத்துதல் (mounting)

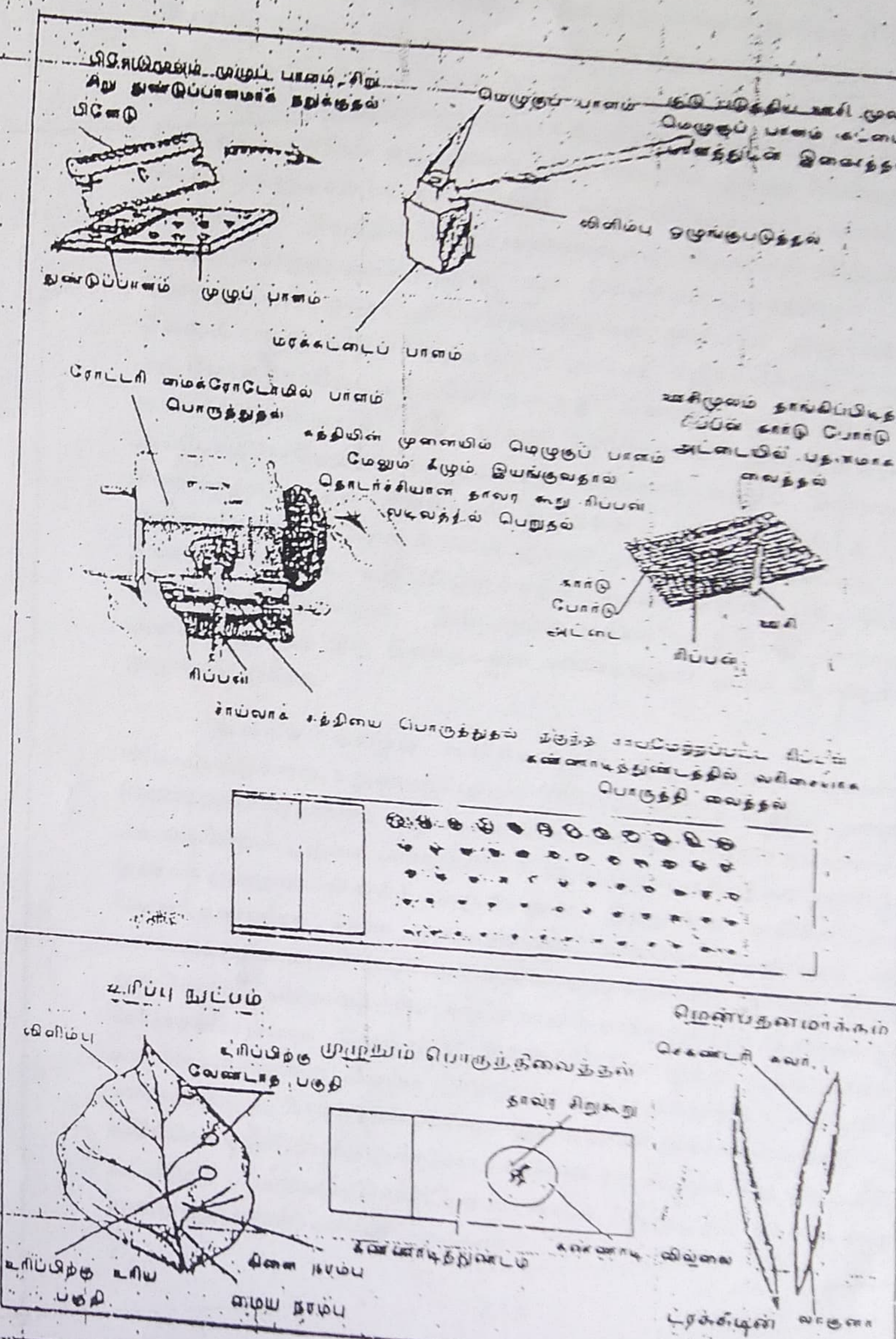
உரிப்பு நுட்பத்தின் மூலம் புறத்தோல் செல்களில் காணப்படும் பைம்புழைகள்



செல் பாகம்	கறையேற்றும் சாயங்கள்
1. செல்லுலோஸ் செல்சுவர்	அமில பக்சின் அனிலின் நீலம் திடப்பச்சை ஹெமட்டோசைலின் பிஸ்மார்க் பழுப்பு
2. லிக்னின் படிந்த சுவர்	சாப்ரனின் படிக ஊதா அஸார்-B குளோரோகுளுசின்
3. கியூட்டின் படிந்த சுவர்	சாப்ரனின் படிக ஊதா எரித்ரோசின்
4. இடையடுக்கு	ஹெமட்டோசைலின் ருத்தினம் சிவப்பு
5. குரோமசோம்கள்	ஹெமட்டோசைலின் சாப்ரனின், படிக ஊதா, கார்மின், ஆர்சின், புல்ஜின்
6. மைட்டோகாண்ட்ரியங்கள்	இரும்பு, ஹெமட்டோசைலின்
7. ஸ்பிண்டில் நார்இழைகள்	படிக ஊதா
8. சைட்டோபிளாசம்	இயோசின், எரித்ரோசின், திடப்பச்சை, ஆரஞ்சு ஜி.

நியமங்கள் (principles)	வேதியியல் தன்மை (classification)
1. வேதியியல் தன்மை (Chemical nature)	1. பேசிக்கறைகள் (Basic stains) நிறமற்ற அசிட்டேட் குளோரைடு அல்லது சல்பேட் ரேடிகிள்வுடன் இணைவுற்ற நிறமுற்ற கரிமக்காரம் (organic base) உட்பட்டிருக்கும்பொழுது அது காரக்கறை (basic stain) எனப்படுகிறது. 2. நிறமுற்ற கரிம ரேடிகிள்வுடன் சேர்ந்த சோடியம், பொட்டாசியம் போன்ற உலோகக்காரம் (metallic base) உட்பட்டிருந்தால் அது அமிலக்கறை எனப்படும். 3. இடைநிலைக்கறை (neutral stain) அமிலச் சாயமும் காரச்சாயமும் ஒன்றாகச் சேர்த்து தயாரித்த சாயம் இடைநிலைச்சாயம் எனப்படும்.
2. செல்லின் பல்வேறு பாகங்களுக்கான இணைப்பீர்ப்பு (affinity)	1. நியூக்ளியஸ்க்க நிறமேற்றும் (colouration) கறையினை நியூக்ளியர்கறை (nuclear stain) என்பர். 2. சைட்டோபிளாசத்தை வண்ணமாக்கும் சாயம் சைட்டோபிளாஸ்மிக் கறை (cytoplasmic stain) எனப்படும்.
3. நுண்ம, நுட்பத்திற்கான நோக்கங்கள் (purposes of microtechnique)	1. சைலம், புளோயம், ஸ்கிளிரன்கைமா போன்ற திசுக்களை விளக்க உதவும் கறைகளுக்கு திசுவியல் கறைகள் (histological stains) என்று பெயர். 2. செல்லின் அங்கங்களை (components) வேறுபடுத்த உதவும் கறைகளுக்கு செல்லியல் கறைகள் (cytological stains) என்று பெயர்.




பிளேடு
துண்டுப்பாளம்
முழுப் பாளம்
மரக்கட்டைப் பாளம்
மெழுகுப் பாளம்
விளிம்பு ஒழுங்குபடுத்தல்
ரோட்டரி மைக்ரோடோமில் பாளம் பொருத்துதல்
ரிப்பன்
கார்டு போர்டு அட்டை
சாய்வாக் கத்தியை பொருத்துதல்
உரிப்பு நுட்பம்
விளிம்பு
உரிப்பிற்கு உரிய பகுதி
கிளை நரம்பு
மைய நரம்பு
கண்ணாடித்துண்டு
கண்ணாடி வில்லை
மென்பதனமாக்கம்