

Materyalin Tespiti

Sitogenetik çalışmalarda ve araştırmalarda kullanılan tespit çözeltilerinin sayısı çok fazla değildir. Tespit çözeltisinde etkenlik bizi yakından ilgilendirmektedir. Özellikle, kromozomların canlının hayattaki durumuna mümkün olduğu kadar yakın olarak tespiti önemlidir. Bu bakımdan, öldürücü, tespit edici bir sıvının etkisi öncelikle, öldürme işlemini hızlı şekilde yapmasına bağlıdır. Böylece, hayat seyrini birdenbire sona erdirmekle birlikte, ani olarak, hücreleri mümkün olduğu kadar hayattaki durumunu bozmadan tespit etmek büyük değer taşır. O halde, sıvının hücreler üzerinde hemen hızlıca sertleştirme etkisi olmalı ve bunun yanında sıvı dokulara mümkün olduğu kadar hızlı girmeli, geçmelidir. Bitki dokularına giren çeşitli tespit çözeltileri kullanılmaktadır.

Tespit Çözeltileri:

Glasial asetik asit: İlk işlemde sonra, kök uçları bu asitte yarım saat bekletilir.

Asetik alkol: Tespit (fiksatif) çözeltisi (Farmer'in formülü) McLean ve Cook (1941) ile Sass (1951):

1 ölçek glasial asetik asit ($\text{CH}_3\text{-COOH}$)

3 ölçek absolüt alkol (etil alkol- $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$); bu karışımın 200 cm^3 'üne 1- 2 damla demir üç klorürün sudaki eriyiği ilave edilebilir. Böylece, boyanan kromozomlar boyayı daha fazla kabul eder.

Karnoy (Carnoy, 1886) tespit çözeltilisi

Karnoy 1 (3:1 Etanol: Glasiyal asetik asit): Bu fiksator hücre içerisine çok hızlı nüfuz eder. En yaygın kullanılan fiksatördür. Bu fiksatorü yeni hazırlanmış durumda kullanmak çok iyi sonuç verir. Bu fiksator 3 bölüm saf etanol ve 1 bölüm glasiyal asetik asit ile hazırlanır. **Karnoy 2** (6:3:1 Etanol: kloroform: Asetik asit): Mayoz incelemelerinde tercih edilir. Somatik hücreler üzerinde kullanılan bu çözeltilerin en önemlisi Glasiyal asetik asit ve 3:1 çözeltilisi (3 birim etil alkol, 1 birim asetik asit) olarak tanımlanmaktadır.

Materyalin Muhafazası

Tespit işleminden sonra eldeki materyalin hepsini bir günde incelemek olanağı yoktur. O halde, bu materyalin uzun süre bozulmadan saklanması gerekir.

Tespit çözeltisinden çıkartılan materyal genellikle, alkolde saklanır. Örneğin, glacial asetik asitte yarım saat bekletilerek ilk tespit yapılmış olabilir. Bu materyal % 70'lik alkolde oda sıcaklık derecesinde 2 defa 5'er dakika yıkanır. Böylece, materyal asetik asitten temizlenir. Sonra yine % 70'lik alkol içinde buzdolabında +4°C'da depolanır. Materyalin uzun süre bozulmadan muhafazası için tüplerin ağzı mantar tıpalarla kapatılmalıdır. Bir kaç ay beklemesi gereken materyalin bulunduğu tüplerin ağzları mantar tıpa ile kapalı iken 40°C'daki etüvde beherglas içinde erimiş halde bulunan parafine tüplerin mantarlı kısmı 1-3 defa batırılıp çıkarılarak tüpün ağzı ve mantar tıpanın üzeri parafin ile kaplanır. Sonuç olarak, tüp içinde bulunan alkolün uçması biraz daha iyi kontrol edilmiş olur. Bu yöntem materyalin daha uzun zaman bozulmadan saklanmasına yardım eder.