

## Hidroliz

Hidroliz dokuların hücrelerini birbirinden ayırıp onların daha iyi gözlenmesi bakımından önemlidir. Özellikle, bitki dokularının Feulgen ile boyanmadan önce hidroliz yapılması gerekir. Somatik mitozun gözleminde kullanılan meristem dokular, izole edilmiş yumurtalar; aynı şekilde, henüz meiosisin başlamadığı çok genç çiçek tomurcukları veya genç çiçeklerin primordium parçalarındaki kalın dokuların hücrelerini birbirinden ayırıp, onların daha iyi gözlenmesi sağlanmalıdır. Bu ayırma işleminden sonra artık dokular, aralarında birleştirici kuvvet bulunmayan yalnız bir hücreler yığını durumunu alır. Hücrelerin mikroskop altında yeterince net olarak gözlemi için üst üste gelmeden tek bir hücre tabakası halinde yayılması gerekmektedir. Böylece, birbirinden ayrılan hücreler kendi içlerinde bulunan kısımları ile birlikte dağılırlar. Kalın dokulardan iyi preparatların yapılabilmesi için, en önemli nokta, mikroskop alanında düzgün şekilde dağılmış ve birbirinden ayrılmış hücreleri görece kadar elverişli bir hidroliz işlemi uygulamaktır.

---

## Hidroliz

% 70'lik alkolde depolanmış veya glasial asetik asitte 30 dakika bekletildikten sonra depolanmadan doğrudan doğruya boyanması istenilen kök ucu materyali 3 defa, 5'er dakika damıtık suda yıkandıktan ve alkol veya asidi giderildikten sonra hidrolizi yapılır. Hidroliz için zaman, sıcaklık derecesi ve hidrolizde kullanılan HCl'in konsantrasyonu önemlidir. En çok kullanılan hidroliz yöntemlerinde 60°C'da 1N HCl materyal 5-20 dakikaya kadar uzayan sürelerde bekletilmektedir. Hidroliz süresi çok dikkatle belirlenmelidir. Çünkü, bu süre materyalden materyale göre büyük değişimler gösterdiği gibi, özellikle, Feulgen ile yapılan boyamalarda kromozomların optimum boyayı almasının en önemli koşullarından birisi de hidroliz süresinin materyale göre doğru belirlenmiş olmasıdır.



## Boyama

Boyama işlemi, kromozomların Heterokromatin ve Eukromatin bölgelerinin ve sitoplazmanın net görülmesini sağlamaktadır. Boyama işleminde yaygın olarak kullanılan maddeler:

**Aseto karmin Boyası:** Bu boya ile bitki kromozomlarını mitoz ve mayozda incelemek çok kolaydır. % 2 oranında kullanıldığında etkisi daha yüksek olur. 12 saat süre ile oda sıcaklığında çok iyi sonuç verir.

**Aseto orsein boyası:** Bu boya da karmen gibi % 2 oranında kullanıldığında iyi sonuç vermektedir.

**Fulgen Boyası:** Karanlık ortamda 30°C de 45 dakikada kök meristemlerini çok hızlı boyamaktadır.

**Aseto iron hematoksilin:** Kromozom morfolojisi ve karyotipin tüm detaylarını izlemek için en etkili boyadır. 32 °C sıcaklıkta 18-24 saat arasında en iyi sonuç vermektedir.

---

## Feulgen boyaması

Kök uçları hidrolizden sonra, 30 dakika feulgen'de bekletilmiştir. Feulgen Kromozomları vişneçürüğü (koyu viole) rengine boyama özelliğine sahiptir. Feulgen kromozomları ve hücre çekirdeğini boyamaktadır. Dolayısıyla mitoz bölünmenin en yoğun olduğu bölgeyi daha koyu bir şekilde boyamaktadır. Bu bölge kökün 1–3 mm'ye kadar uç kısmının hücreleridir. Bazen feulgen de boyanmış materyalin hepsini preparat yapıp incelemek için zaman yetmeyebilir. Herhangi bir nedenle incelenmeyen feulgen ile boyanmış materyali 4°C de 1-2 gün bekletip incelemek mümkün olabilir. Ancak bu durumdaki örnekler ile karyotip analizi yapılması güvenilir araştırma sonuçları vermeyebilir

---



## Feulgen'in hazırlanışı

1g kristal halinde fuksin bazik alınır. Küçük bir havanda veya 8-10 cm çapında bir saat camı içinde ezilir. 500 cm<sup>3</sup>'lük bir erlenmayerin dip kısmına, kabın etrafına bulaştırmadan bu ezilmiş, toz haline getirilmiş fuksin baziği konur. Bir başka erlenmayerde 200 cm<sup>3</sup> lük damıtık su kaynatılır. Toz halindeki fuksin bazik üzerine bu kaynamış damıtık suyu yavaş yavaş dökülür. Bir yandan da cam çubuk ile boyayı devamlı bir şekilde karıştırılır. Boyayı 50°C'a kadar soğuyuncaya değin karıştırmaya devam edilir. 20 cm<sup>3</sup> N HCl ilave edilir ve daha sonra süzülür. 2 g potasyum metabisülfid (K2S2O5) ilave edilir. Boya ağzı iyice kapatılmış bir şişeye koyulur.

Karanlık bir yerde, dolapta 24 saat kadar, en az bir gece bekletilir. Böylece vişneçürüğü rengindeki boya açık çay rengini alır. Boya +4 °C da buzdolabında muhafaza edilir.

---