

LA TÉCNICA
DE
DOBLE COLORACIÓN DIFERENCIAL

EN HISTOLOGÍA VEGETAL

POR AUGUSTO C. SCALA

De las Universidades nacionales de La Plata y Buenos Aires

I. Un nuevo colorante carmínico. Método de preparación. — II. Técnica de doble coloración. — III. Método abreviado para hacer preparaciones definitivas. Nuevo conservador de montaje.

I

Con el objeto de dar á conocer un nuevo procedimiento de técnica colorante, publico la presente nota, sin entrar en mayores detalles, desde que ellos irán incluidos en la obrita que va á imprimirse próximamente.

En el manejo diario de la conocida técnica utilizada en histología vegetal (verde iodo-carmín-alumbre), tuve, como la tienen muchas otras personas, oportunidad de constatar infinidad de veces, los malos resultados que da el carmín-alumbre, cuyo poder y nitidez de coloración son más que problemáticos, á tal punto, que ahora estimo oportuna su eliminación del material técnico, y dados los resultados espléndidos que he obtenido, su reemplazo por el carmín al ácido bórico, cuya fórmula es la siguiente:

Carmín puro	0.50 gr.
Agua destilada caliente.....	150 cent. cúb.
Ácido bórico	3 gr.

Disuélvase el ácido bórico en el agua destilada caliente, agréguese el carmín y continúese calentando al fuego por espacio de 15 minutos (es decir, más ó menos el tiempo necesario para que se evaporen unos 50 centímetros cúbicos de agua). Agítese constantemente. Fíltrese en caliente. Notaráse que el exceso de ácido bórico precipita en frío; sin embargo, no debe separarse.

II

TÉCNICA DE DOBLE COLORACIÓN UTILIZANDO EL CARMÍN BÓRICO

(En general la técnica de doble coloración se emplea cuando tan sólo se trata de estudiar la estructura interna de un vegetal cualquiera, sufriendo modificaciones ó siendo suprimida por completo, cuando debe estudiarse el contenido celular.)

Se harán los cortes como de costumbre, se pasan luego por el hipoclorito sódico, se lavan en agua, se colorean con el verde-iodo ¹ (verde iodo, 0,25 gr.; agua destilada, 100 gr.); se lavan en agua, se pasan por solución de sulfato aluminico (1 %_o, acuosa) durante 5 minutos para quitar el exceso de verde y preparar la acción del carmín, en el cual se sumergen los cortes, lavados rápidamente en agua, por 5 á 10 minutos. Se lavan de nuevo en agua, y se montan en glicerina si se trata de preparaciones de observación momentánea (transitorias), ó bien, si se quieren hacer preparados definitivos, después del carmín se irán pasando sucesivamente por los alcoholes á 60°, 70°, 80°, 90°, 100°; por xilol y se montarán en bálsamo de Canadá.

Para uniformar presento el cuadrado siguiente que indica las sucesivas operaciones que el corte debe sufrir:

¹ Contrariamente á lo que hacen hasta hoy los diferentes autores, utilizo el verde-iodo en la proporción que indico, en lugar de solución saturada acuosa, pues la experiencia me demuestra la mayor nitidez de la coloración.

Tiempo de coloración : 30 segundos á un minuto.

Para preparaciones transitorias

Hipoclorito sódico
|
Agua destilada
|
Verde-iodo
|
Agua destilada
|
Sulfato aluminico
|
Agua destilada
|
Carmín bórico
|
Agua destilada
|
Montaje en glicerina.

Para preparaciones definitivas

Hipoclorito sódico
|
Agua destilada
|
Verde-iodo
|
Agua destilada
|
Sulfato aluminico
|
Agua destilada
|
Carmín bórico
|
Agua destilada
|
Alcohol á 60°
|
Alcohol á 70°
|
Alcohol á 80°
|
Alcohol á 90°
|
Alcohol á 100°
|
Xilol
|
Montaje en bálsamo de Canadá.

III

MÉTODO ABREVIADO PARA HACER PREPARACIONES DEFINITIVAS

Más de una vez se habrá notado la abrumadora lentitud que resulta de preparar cortes para ser coloreados y montados en bálsamo de Canadá, especialmente el pasaje por los diferentes alcoholes, indispensable para la absoluta deshidratación del preparado, sin cuyo requisito el bálsamo se emulsiona y nubla los cortes, al extremo de hacer difíciles y aun imposibles las observaciones microscópicas; por otra parte, pocos son los cortes que resisten la acción continuada de tantos deshidratan-

tes sin contraerse, de donde resulta que después de un trabajo de casi dos horas, los cortes no sirven.

Este punto me ha preocupado también durante algún tiempo, y después de una serie de tanteos me decidí por el montaje de las preparaciones en un líquido conservador, cuya fórmula definitiva es la siguiente:

Goma arábiga pura de Erba, pulverizada . . .	12 gr.
Agua alcanforada ¹	25 cent. cúb.
Glicerina	2 —
Sulfato aluminico	0,05 gr.
Agua destilada	25 cent. cúb.

Disuélvase la goma en el agua alcanforada; el sulfato aluminico en el agua destilada, agréguese á esta solución la glicerina, moviendo suavemente con una varilla de vidrio; mézclense las dos soluciones poco á poco. Filtrese por papel de filtro blanco, haciendo que el líquido llegue al fondo del frasco sin golpear gotcando, lo que se consigue usando un embudo cuyo tubo al sesgo llegue hasta el fondo del recipiente. El frasco con tapa de esmeril prolongada en varilla es el más recomendable para el caso presente.

Los cortes no deben pasar por los alcoholes sino por agua solamente. Después de coloreados en el carmín bórico se lavan en agua destilada, se colocan sobre el porta-objetos, se absorbe el agua que aún los humedece, se vierten dos ó tres gotas del líquido de montaje, ya sea sobre los mismos cortes ó mejor aun sobre el cubre-objetos, el que se invertirá con un movimiento rápido y se apoyará suavemente sobre los cortes.

Y la preparación definitiva está lista. Se la puede calentar después durante unos 5 minutos á la estufa (30°-40°), ó sencillamente á cierta distancia de una llama cualquiera de lámpara de alcohol ó mechero Bunsen, si se la quiere secar rápidamente, pero en general basta dejar las preparaciones en posición horizontal por espacio de 4 á 5 horas y estarán lo suficientemente secas y adheridos los cubre-objetos para que puedan ser inclinadas sin peligro de deslizamiento.

El tiempo que dura la técnica completa queda reducido de 15 á 25 minutos según la práctica del operador, con la ventaja inapreciable de poder hacer á un mismo tiempo una serie de cortes, sin temor de que se sequen, contraigan ó se resquebrajen, debido á la supresión completa

¹ El agua alcanforada se prepara así: Agua destilada, 100 centímetros cúbicos; alcohol alcanforado, 5 centímetros cúbicos; déjese en contacto durante 1-2 días, agitando de tiempo en tiempo. Filtrese para separar el alcanfor precipitado. Frasco esmeril.

de los alcoholes, del xilol y bálsamo de Canadá, técnica para cuya realización completa se requiere nunca menos de 2 horas.

Las personas que utilicen el nuevo carmín al ácido bórico notarán la finura, intensidad y brillo de coloración que se obtienen con el colorante que indico, y esa será la mejor manera de reconocer, aprobar y aun recomendar su uso y buenas cualidades.

Buenos Aires, junio 14 de 1908.