இயல் 3

சாயங்களும் சாயமேற்கும் முறைகளும்

இயல் திட்டவரை

3.1 நுண்ணுயிரிகளை உற்றுநோக்கும் முறைகள்

3.2 சாயமேற்றுதலின் நோக்கம்

3.3 சாயங்கள்

3.4 சாயமேற்றுதலின் அடிப்படைத் தத்துவம்

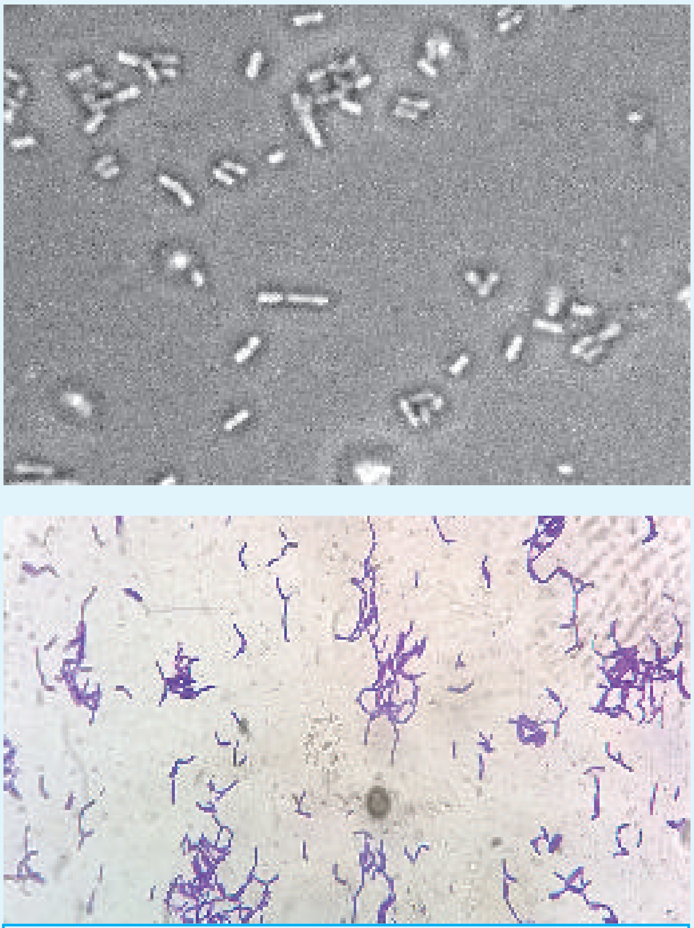
3.5 சாயமேற்பதற்குப் பொருளைத் தயாரித்தல்

3.6 எளிய சாயமேற்கும் முறை

3.7 மாற்றுச் சாயமேற்கும் முறை

3.8 சிறப்பு சாயமேற்கும் முறை – அகசிதல் விதை சாயமேற்கும் முறை

3.9 பொதுவாகப் பயன்படுத்தப்படும் சாயங்கள்



தயிரில் உள்ள சாயமேற்றப்படாத மற்றும் சாயமேற்றப்பட்ட லேக்டோபேசில்லஸ் சிற்றினம். *லேக்டோபேசில்லஸ்* என்னும் பாக்டீரியா பேரினம் பாலில் உள்ள லாக்டோசை நொதித்தல் முறையில் லாக்டிக் அமிலமாக மாறுகிறது. சாயமேற்றுதல் நுண்ணுயிரி செல்களை நுண்ணோக்கியில் தெளிவாக காண உதவுகிறது.

கற்றல் நோக்கங்கள்

மாணவர்கள் இப்பாடப்பகுதியைப் பயின்ற பிறகு,

- *சாயமேற்றுதலின் தேவையை அறிவர்.*
- *அமிலசாயங்களையும் கார சாயங்களையும் வேறுபடுத்தும் திறன் பெறுவர், சாயமேற்பதின் அடிப்படைத் தத்துவத்தை புரிந்துக் கொள்வர்.*
- *நுண்ணுயிரிகளைச் சாயத்தின் வினைக்கேற்ப வேறுபடுத்தி அறிவர். மேலும் எளிய சாயமேற்கும் முறைக்கும், மாற்று சாயமேற்கும் முறைகளுக்குமான வேறுபாடுகளை அறிவர்.*
- *மெல்லிய பூச்சி (Smear) தயாரித்து அதை எவ்வாறு நிலைப்படுத்துவது என்பதைச் செய்முறையின் வாயிலாக அறிவர்.*
- *எளிய, மாற்று மற்றும் சிறப்பு சாயமேற்கும் செய்முறைகளை விவரிப்பர்.*
- *மாற்று சாயமேற்கும் முறையில் கிராம் பாசிடிவ் மற்றும் கிராம் நெகடிவ் பாக்டீரியவை வேறுபடுத்தும் திறன் பெறுவர்.*
- *நோய் உண்டாக்கும் பாக்டீரியாக்களைக் கண்டறிவதில் கிராம் சாயமேற்கும் முறைக்கும் அகசிதல் விதை சாயமேற்கும் முறைக்கும் உள்ள முக்கியத்துவத்தை அறிவர்.*
- *சாயங்களின் பெயர்களையும், நோய் உண்டாக்கும் நுண்ணுயிரிகளின் பெயர்களையும் கற்றுக்கொள்வர்.*

மழைநீரில் நீ விளையாடும் பொழுது நுண்ணுயிரிகளைப் பற்றி எப்போதுவது யோசித்திருக்கிறாயா…? நீங்கள் உண்ணும் தயிர் எவ்வாறு தயாரிக்கப்படுகின்றது என்றும் அதில் என்னென்ன நுண்ணுயிரிகள் இருக்கிறது என்பதையும் கண்டு வியந்துள்ளாயா…? முன் பாடத்தில், நுண்ணுயிரிகளை நுண்ணோக்கியால் மட்டுமே காணமுடியும் என்பதை தெளிவாக புரிந்துக் கொண்டு இருப்பீர்கள். ஆனால், உயிருள்ள நுண்ணுயிரிகளின் முழுமையான உடலமைப்பை, ஒளி கூட்டு நுண்ணோக்கியினால் அறிவது கடினம். இதற்கு நிறம் மாறுபாடு இல்லாததே காரணம். ஆகவே, மிகச் சிறிய உயிரினங்களை தெளிவாக பார்ப்பதற்கு சாயங்களும் சாயமேற்கும் முறைகளும் மிகவும் பயனுள்ளதாக உள்ளன.

3.1 நுண்ணுயிரிகளை உற்றுநோக்கும் முறைகள்

நுண்ணோக்கியைப் பயன்படுத்தி நுண்ணுயிரிகளை உற்றுநோக்க இரண்டு பொதுவான நுட்பங்கள் உள்ளன. முதல் நுட்பமானது, உயிருள்ள நுண்ணுயிரிகளை சாயமேற்றப்படாத முறையிலும், இரண்டாவது நுட்பமானது, உயிரற்ற நுண்ணுயிரிகளை சாயமேற்றிய முறையிலும் தயார் செய்கிறது. இவ்வாறு நுண்ணுயிரிகளை நுண்ணோக்கியால் கவனமாக உற்றுநோக்குவதனால் அவற்றின் அமைப்புகளைத் தெளிவாகக் காண முடிகிறது.

3.1.1 சாயமேற்றப்படாத நுண்ணுயிரிகளைப் பரிசோதிக்கும் முறைகள்

ஈர ஏற்ற (Wet Mount) முறையினாலும் தொங்கல்துளி (Hanging drop) முறையினாலும் உயிருள்ள நுண்ணுயிரிகளை நேரடியாக நுண்ணோக்கியில் காணமுடியும். இம்முறைகளினால் நுண்ணுயிரிகளின் வடிவம், அளவு, நகரும் தன்மை ஆகியனவற்றை அறியலாம். பொதுவாக, திருகுசுருள் பாக்டீரியா (Spirochetes) போன்ற நுண்ணுயிரிகளை ஈர ஏற்ற தயாரிப்பினால் டார்க் ஃபீல்ட் (Dark field) நுண்ணோக்கியில் காணமுடியும். குமிழ்கள் மற்றும் சிதில் விதை (Spore) போன்ற சில பொருள்களைச் சாயம் ஏற்றதா நிலையில் துரிதமாக பார்க்க முடியும்.

- ஈர ஏற்ற தயாரிப்பு என்பது ஒரு கண்ணாடி நழுவத்தில் (Slide) ஒரு துளி நுண்ணுயிர் கலவையை வைத்து அதன்மேல் மெல்லிய கண்ணாடி சில்லை (Cover slip) வைப்பது ஆகும் (படம் 3.1.அ).
- தொங்கல்துளி தயாரிப்பானது மெல்லிய கண்ணாடி சில் (Cover slip) குழி நழுவம் ஆகியவற்றைக் கொண்டு செய்யப்படுகின்றது. ஒரு சிறிய குச்சியைப் பயன்படுத்தி கண்ணாடி சில்லின் நான்கு முனைகளிலும் அல்லது குழி நழுவத்தின் குழியைச் சுற்றிலும் வாசிலின் களிம்பு இட வேண்டும். ஒரு துளி நுண்ணுயிரி கலவையை (நுண்ணுயிரி கொண்ட திரவம்) மெல்லிய கண்ணாடி சில்லின் மேலே வைக்க வேண்டும். மெல்லிய கண்ணாடி சில்லை வைத்து உடனடியாக குழி நழுவத்தில் தலைக்கீழாக திருப்ப வேண்டும். இவ்வாறாக தயாரித்த துளி தொங்கிய நிலையில் இருக்கும்.

நுண்ணுயிரின் செல்கள் நிறமற்றவையாகவும், ஒளி ஊடுருவும் தன்மை உள்ளனவாகவும் இருப்பதால், ஈர ஏற்ற தயாரிப்பைப் பயன்படுத்தி ஒளி நுண்ணோக்கியில் அவற்றைப் பார்ப்பது மிகவும் கடினம். ஆனாலும், உயிருள்ள செல்லின் உள்ளமைப்பை சாயமேற்றப்படாமல் காண, டார்க் ஃபீல்ட் (Dark Field microscope) நுண்ணோக்கியும், பேஸ் காண்ட்ராஸ்ட் நுண்ணோக்கியும் (Phase contrast microscope) மிகவும் பயனுள்ளதாக உள்ளன.

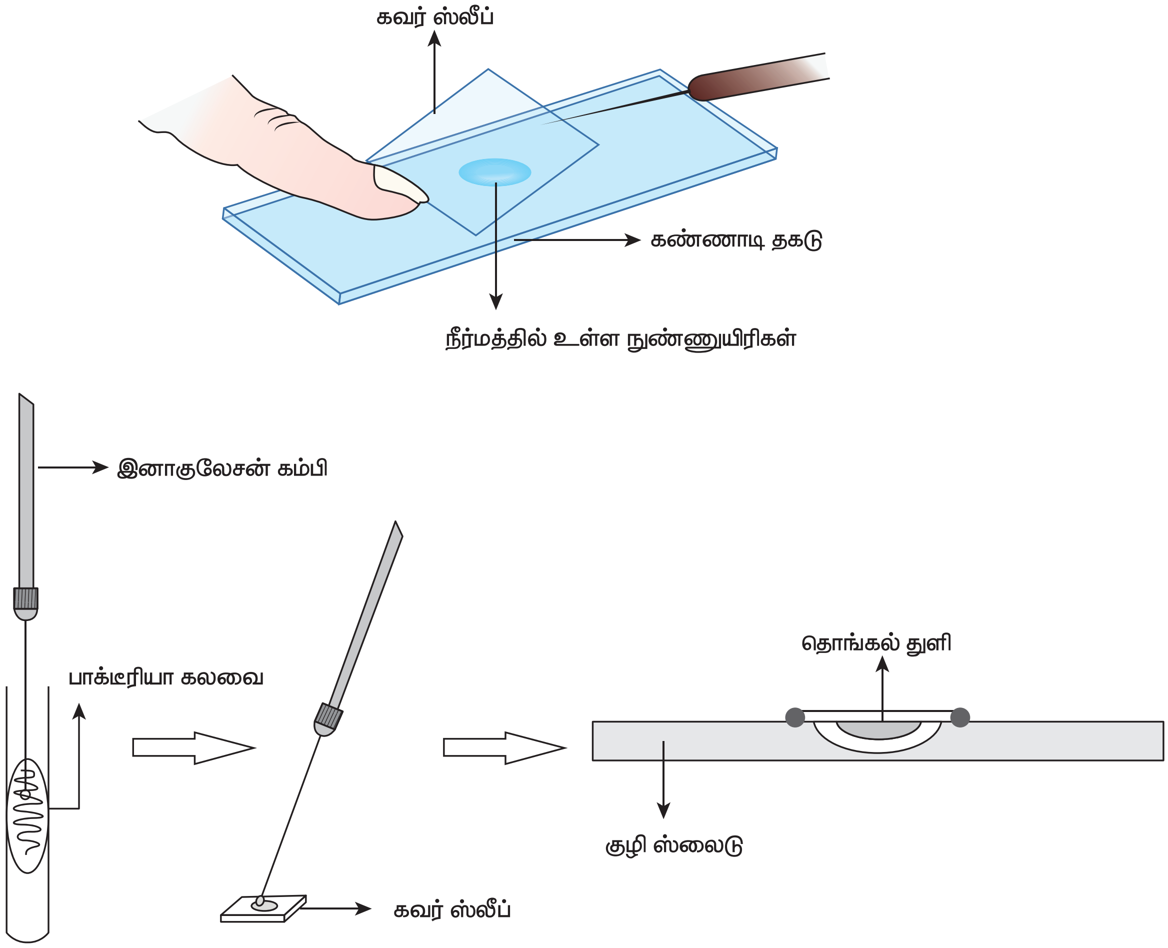
3.1.2 சாயமேற்றப்பட்ட நுண்ணுயிரிகளைப் பரிசோதிக்கும் முறை

சாயமேற்றுதல், நுண்ணோக்கியினால் நுண்ணுயிர் செல்களை மிக தெளிவாக பார்ப்பதற்கு உதவுகிறது. சாயமேற்றப்பட்ட செல்களை நுண்ணோக்கியில் பார்ப்பதனால் அவற்றின் வடிவம், அளவு, அமைப்பு ஆகியவைகளை எளிதாகக் காணமுடிகிறது. நோய் உண்டாக்கக் கூடிய நுண்ணுயிரிகளைக் கண்டறியவும் சாயமேற்றும் முறை பயன்படுத்தப்படுகிறது.

3.2 சாயமேற்றுதலின் நோக்கம்

பின்வரும் காரணங்களுக்காக, சாயமேற்றுதல் மிகவும் பயனுள்ளதாக இருக்கின்றது.

- பாதி ஒளிபுகும் தன்மையுடைய நுண்ணுயிர் செல்களைத் தெளிவாகக் காண.
- நுண்ணுயிர் செல்களின் வடிவம் மற்றும் அளவை அறிய.
- நுண்ணுயிர் செல்களின் உட்புற மற்றும் வெளிப்புற அமைப்புகளைச் செய்முறையைக் காண.



(அ) (ஆ)

படம் 3.1: அ) ஈர ஏற்ற தயாரிப்பு முறை ஆ) தொங்கல்துளி தயாரிப்பு முறை

- பல்வேறு வகையான நுண்ணுயிரிகளை வேறுபடுத்தி அறிய.
- நுண்ணுயிரிகளின் இயற்பியல் மற்றும் வேதியியல் வினைகளை உருவாக்க
- நுண்ணுயிர் செல்களைப் பதப்படுத்தி எதிர்கால ஆய்வுக்குப் பயன்படுத்த.

3.3 சாயங்கள்

சாயங்கள் என்பது நிறவேறுபாட்டினை மிகுதிபடுத்தக்கூடிய கரிம வேதிப்பொருள் ஆகும். அவை, நுண்ணுயிரியின் செல்களின் மீது ஒட்டிக் கொள்வதனால், செல்களுக்கு நிறத்தை வழங்கி அச்செல்களை நுண்ணோக்கியினால் தெளிவாகப் பார்ப்பதற்கு வகை செய்கின்றன. இன்றைய காலக்கட்டத்தில், நுண்ணுயிரிகளின் புறத்தோற்றத்தை அறிய பல்வேறு வகையான சாயங்களும், சாயமேற்றும் உத்திகளும் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. நுண்ணுயிர் செல்களுக்கு சாயமேற்றும் முறையே சாயமேற்றுதல் எனப்படும்.

சாயமானது என்பது குரோமோஃபோர் பகுதியும் நிற ஊக்கி (auxochrome) பகுதியும் ஒரு பென்சீன் வளையத்தைக் கொண்ட கரிமப் பொருள் ஆகும்.

சாயத்தின் குரோமோஃபோர் பகுதி நிறத்தினை அளிக்கின்றது. பென்சீன் வளையத்துடன் இணைக்கப்பட்ட குரோமோஃபோர் குரோமோஜன் என்று அழைக்கப்படுகிறது. இவ்வாறாக இணைக்கப்பட்ட குரோமோஜன் பகுதிக்கு நிறம் இருந்தாலும், அதை டை (Dye) என்று கூற இயலாது. ஒரு கரிமப் பொருளை டை என்று கூறுவதற்கு குரோமோஃபோர் பகுதிக்கு மின் விலகல் பண்புகளை அளிக்கும் அஃசோகுரோம் அவசியமாக இருக்க வேண்டும். இந்த நிற ஊக்கி சாயத்திற்கு உப்பு உருவாக்கும் பண்புகளைத் தருகிறது. ஆகவே, சாயம் அல்லது டை மூன்று கூறுகளைக் கொண்டுள்ளன.

i) பென்சீன் வளையம்: இது சாயத்தின் அடிப்படை கட்டமைப்பைக் கொடுக்கும் நிறமற்ற கூறாகும்.

ii) குரோமோஃபோர்: இது சாயத்திற்கு நிறத்தை வழங்கும் வினைசெயல் பகுதியாகும்.

iii) அஃசோகுரோம்: இது சாயத்திற்கு அயனி பண்புகளை வழங்கும் பகுதியாகும்.

சாயம் (Stain) என்ற சொல்லும், டை (Dye) என்ற சொல்லும் ஒன்றல்ல. சாயத்திற்கும் டைக்கும் உள்ள அடிப்படை வேறுபாடுகள் அட்டவணை 3.1ல் கொடுக்கப்பட்டுள்ளன.

அட்டவணை 3.1: சாயத்திற்கும் டைக்கும் இடையே உள்ள வேறுபாடுகள்

டை	சாயம்
பொதுவான வேலைகளுக்கு பயன்படும் நிறமி பொருள் டை என்று அழைக்கப்படும்	உயிர் செல்களுக்குப் பயன்படுத்தப்படும் நிறமிப் பொருள் சாயம் எனப்படும்.
டை குறைவான விவரக் குறிப்புகளைக் கொண்ட அசுத்தங்கள் நிறைந்த தயாரிப்புகளாகும்.	சாயங்கள் சுத்தமானதாகவும் அதிகப் பராமரிப்புடனும் கூடுதலான விவரக் குறிப்புகளுடைய தயாரிப்புகளாகும்

3.3.1 சாயங்களின் வகைப்பாடு (Classification of stain)

1) தோற்றத்தின் அடிப்படையில், சாயங்கள் இயற்கை அல்லது செயற்கை சாயங்கள் என்று இரு வகைப்படுத்தப்பட்டுள்ளன.

i) இயற்கை சாயம் (Natural stains):

- இவ்வகை சாயங்கள் இயற்கைப் பொருளிடமிருந்து பெறப்படுகின்றது. எடுத்துக்காட்டாக: ஹேமோடாக்ஸிலின் என்னும் சாயம் ஹெமட்டோடாக்சிலான் காம்பீசியம் என்னும் மரத்தின் வைரக்கட்டையில் இருந்து நேரடியாகப் பெறப்படுகின்றது.

  இயற்கை சாயங்கள் பெரும்பாலும் திசுவியல் (Histological) நோக்கங்களுக்காகப் பயன்படுகின்றன.

ii) **செயற்கை சாயம்** (Synthetic stains):

- இவ்வகை சாயங்கள் செயற்கை முறையாக நிலக்கரித் தாரிலிருந்து தயாரிக்கப்படுகின்றன. ஆகையால், இவ்வகை சாயங்கள் நிலக்கரி – தார் சாயங்கள் என்று அழைக்கப்படுகின்றன.

  நுண்ணுயிரியலில் பயன்படுத்தப்படும் பெரும்பான்மையான சாயங்கள் செயற்கை முறையில் அனிலீன் (Aniline) என்னும் கரிம பொருளிலிருந்து தயாரிக்கப்படுபவை ஆகும். எடுத்துக்காட்டுகள்: கிரிஸ்டல் வயலெட் (Crystal Violet), சாஃப்ரனின் (Safranin), மெத்தலின் புளூ (Methylene Blue), ஆஸிட் ஃபக்சின் (Acid Fuchsin).

> **உங்களுக்குத் தெரியுமா?**
>
> ராபர்ட் ஹூக் முதல் முறையாக ஒளி நுண்ணோக்கியை பயன்படுத்தி சாயமேற்றப்பட்ட பொருள்களின் தோற்றத்தை பற்றி விவரித்தார் ஜெர்மன் நாட்டைச் சேர்ந்த பேராசிரியர் ஜோசப் வான் ஜெர்லச் முதல் முறையாக திசுவியலில் சாயத்தை பயன்படுத்தியுள்ளார்.

2) வேதியியல் தன்மையைக் கொண்டு, சாயங்கள் அமிலத்தன்மை, காரத்தன்மை மற்றும் நடுநிலைத்தன்மை என்று வகைப்படுத்தப்படுகின்றன.

- அமிலச் சாயத்தில் நிறத்தை வழங்கும் குரோமோஃபோனாது (Anionic) எதிர்மின்சுமை கொண்டவை.
- கார சாயத்தில் நிறத்தை வழங்கும் குரோமோஃபோனாது (Cationic) நேர்மின்சுமை கொண்டவை.
- நடுநிலை தன்மை கொண்ட சாயம் என்பது ஒரு அமில சாயமும் கார சாயமும் சேர்ந்த இணைவுச்சேர்ம உப்பாகும். பொதுவாக அமில சாயங்கள் செல்லின் சைட்டோபிளாஸ்மிக் (Basic) பொருள்களுடன் மிக வலுவாக இணையும். கார சாயங்கள் செல்லின் நியூக்ளிக் அமில (Acidic) பொருள்களுடன் மிக சிறப்பாக இணையும்.

3.4 சாயமேற்றுதலின் அடிப்படைத் தத்துவம்

நேர்மறை சாயமிடுதல்

நேர்மறை சாயமிடுதலில் பாக்டீரியா செல்கள் நிறமற்ற பின்னணியில் சாயத்தை

அட்டவணை 3.2: சாயம் மற்றும் டையின் வேதியியல் பண்புகள்

அமில சாயம்	கார சாயம்	நடுநிலை சாயம்
அமில சாயத்தின் குரோமோஜன் எதிர்மின் சுமை கொண்டது. ஆகவே, எதிர்மின் அயனி (Anionic) சாயம் என்றும் அழைக்கப்படுகிறது	கார சாயத்தின் குரோமோஜன் நேர்மின் சுமை கொண்டது. ஆகவே, நேர்மின் அயனி (Cationic) சாயம் என்று அழைக்கப்படுகிறது	சாய அமிலம், சாய காரம் சேர்ந்த இணைவு சேர்மம் ஆகும்
நேர்மின் சுமை கொண்ட நுண்ணுயிர் செல் அமைப்புகளை சாயமேற்கப் பயன்படுத்தப்படுகிறது	எதிர்மின் சுமை கொண்ட நுண்ணுயிர் செல் அமைப்புகளை சாயமேற்கப் பயன்படுத்தப்படுகிறது	நடுநிலை சாயங்கள் நுண்ணுயிர் செல்களில் உள்ள நேர்மின் மற்றும் எதிர்மின் சுமை உடைய அமைப்புகளை சாயமேற்றப் பயன்படுத்தப்படுகிறது
எடுத்துக்காட்டு: ஈயோசின் (Eosin), நிக்ரோசின் (Nigrosin), இந்தியா இங்க் (India Ink), ஆஸிட் ஃபக்சின் (Acid Fuchsin) கான்கோ ரெட் (Congo Red)	எ.கா. மெத்தலின் புளு (Methylene Blue), சாப்ஃரனின் (Safranin), மாலக்கெட் கிரீன் (Malachite Green), பேஸிக் ஃபக்சின் (Basic Fuchsin), கிரிஸ்டல் வயலெட் (Crystal Violet)	எ.கா. ஜிம்சா சாயம் (Giemsa Stain), லிஷ்மேன் சாயம் (Leishman Stain)

தகவல் துளி

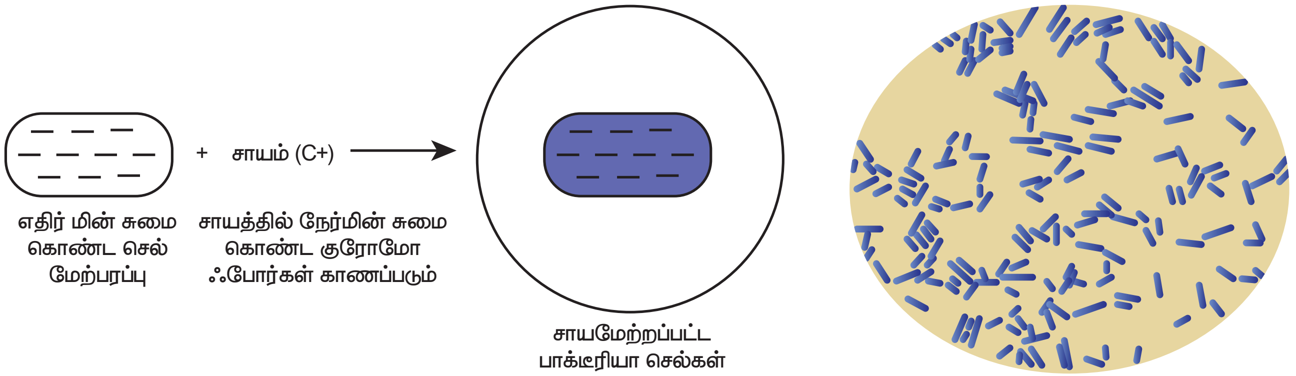
உயிருள்ள செல்களையும் உயிரற்ற செல்களையும் வேறுபடுத்த சாயங்கள் உள்ளன. எடுத்துக்காட்டு: டிராபன் நீலம் (Tryphan blue), நேர்த்தியாக உயிரற்ற செல்களை நீல நிறத்தில் சாயமேற்றி உயிருள்ள செல்களிடமிருந்து வேறுபடுத்துகிறது.

மேலும், சில சாயங்கள் அதன் அசல் நிறத்திலிருந்து வேறு நிறத்தை செல்லின் உட்படிவங்களுக்குக் கொடுக்கின்றன. இவ்வகை சாயங்கள் மெட்டாகுரோமாடிக் சாயங்கள் என்று அழைக்கப்படுகின்றன. *கார்னிபாக்டீரியம் டிப்தீரியே* எனும் பாக்டீரியாவில் பாலிபாஸ்பேட்டுக்களான மெட்டாகுரோமாடிக் துகள்கள் காணப்படுகின்றன. இத்துகள்களை டொலுடின் நீலம் (Toluidine blue) அல்லது மெத்தலின் புளு (Methylene blue) சாயத்தினால் சாயமேற்றுகையில், சாயத்தின் அசல் நிறம் மாறுபட்ட வேறு நிறத்தை அடைகிறது. இப்பண்பு மெட்டாகுரோமேசியா என்று அழைக்கப்படுகிறது.

ஏற்றுக்கொள்கின்றன. ஏனென்றால் கார சாயங்கள் பயன்படுத்தப்படும் போது, நேர்மின் சுமை கொண்ட குரோமோஃபோர் எதிர் மின்சுமை கொண்ட நுண்ணுயிர் செல்லின் வெளிபரப்பால் ஈர்க்கப்படுகிறது. ஆதலால், செல்லின் மேற்பரப்பு சாயத்தை ஏற்கின்றது (படம் 3.2).

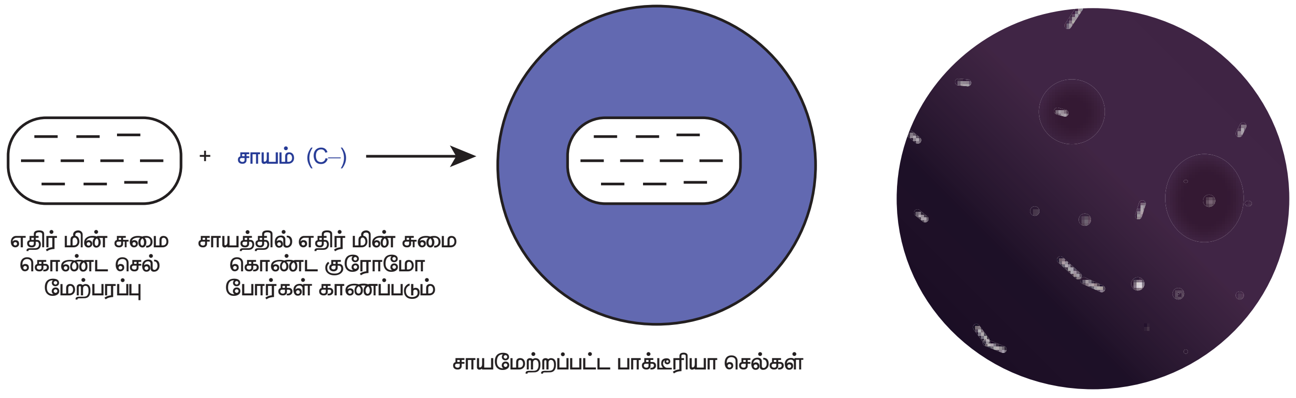
எதிர்மறை சாயமிடுதல்

எதிர்மறை சாயமிடுதலில் நிறமற்ற பாக்டீரியா செல்கள் நிறமுள்ள பின்னணியில் காணப்படுகின்றன. ஏனென்றால், அமில சாயங்கள் பயன்படுத்தப்படும்போது, எதிர்



படம் 3.2: நேர்மறை சாயமிடுதல்

TN_GOVT_XI_Micro_Biology_TAMIL_CH03.indd 29 19-02-2019 5.46.17 PM



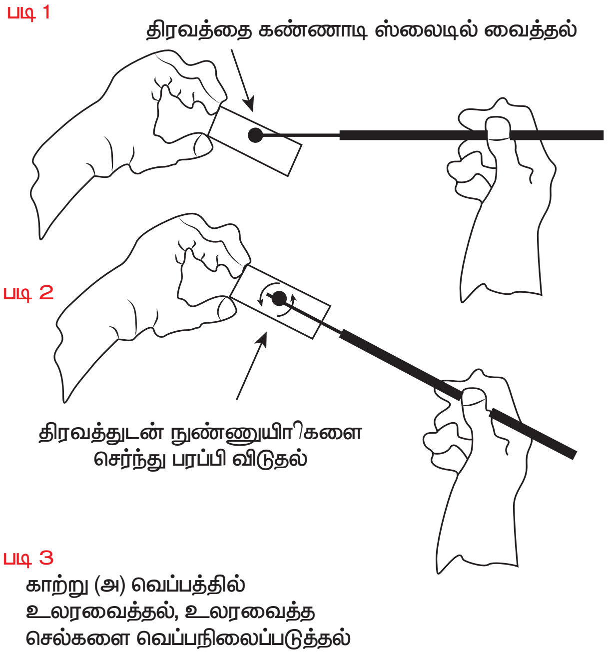
படம் 3.3: எதிர்மறை சாயமிடுதல்

மின்சுமை கொண்டுள்ள குரோமோபோர், எதிர் மின்சுமை கொண்ட நுண்ணுயிர் செல்லால் விலக்கப்படுகின்றது. ஆதலால், நுண்ணுயிர் செல்கள் சாயத்தை ஏற்றுக்கொள்வதில்லை. இந்த சாயமுறை செல்லின் வடிவம், அளவு மற்றும் செல்லைச் சுற்றியுள்ள காப்சூலின் அமைப்பையும் காணப் பயன்படுகிறது (படம் 3.3).

3.5 சாயமேற்பதற்குப் பொருளைத் தயாரித்தல்

ஒரு பொருளை சாயமேற்பதற்குத் தயாரிக்க வேண்டிய தேவையான படிநிலைகளானவை.

1. மெல்லிய பூச்சு தயாரித்தல் (Smear preparation)
2. நிலைப்படுத்துதல் (Fixation)
3. ஒன்று அல்லது அதற்கு மேற்பட்ட சாயங்களைக் கொண்டு சாயமேற்றுதல் (Application of one or more stains)



படம் 3.4: ஸ்மியர் தயாரித்தல்

3.5.1 மெல்லிய பூச்சு தயாரித்தல்

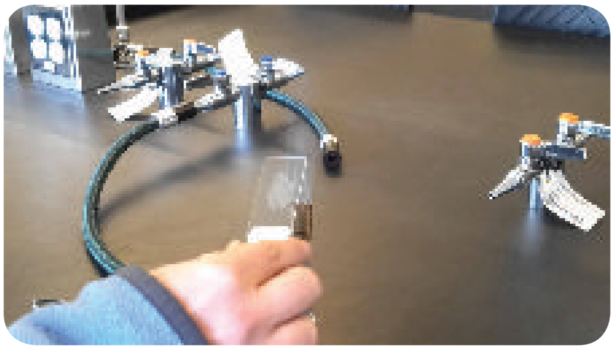
மெல்லிய பூச்சு என்பது திரவ அல்லது திட ஊடகத்தில் அல்லது மருத்துவ மாதிரிகள் ஆகியவற்றிலிருந்து தயாரிக்கலாம். இன்னாகுலேஷன் வளையத்தைப் பயன்படுத்தி நுண்ணுயிர் வளர்ச்சியில் இருந்து ஒரு பகுதியை எடுத்து வைத்து மெல்லிய பூச்சு கண்ணாடி நழுவத்தில், தயாரிக்கப்படுகின்றது. அக்கலவை மெல்லிய படர்வாகப் பரப்பப்பட்டு பின்னர் காற்றில் உலர வைக்கப்படுகிறது (படம் 3.4).

3.5.2 நிலைப்படுத்துதல்

நிலைப்படுத்துதல் நுண்ணுயிரிகளைக் கொன்று, அவைகளை கண்ணாடி நழுவத்துடன் இணைக்கின்றது. இது சாயமேற்றுதலின் அடுத்த படிநிலைகளில் மெல்லிய பூச்சு கழுவப்படும்போது, நுண்ணுயிரிகள் நீங்காத வண்ணம் தடுக்கிறது. மேலும், நுண்ணுயிரிகளின் பல பாகங்களைக் குறைவான சிதைவுகளுடன் அவற்றின் இயற்கையான நிலையில் பாதுகாக்கிறது. பொதுவாகப் பயன்படுத்தப்படும் நிலைப்படுத்தலின், வெப்பம் நிலைப்படுத்துதலும் வேதியியல் நிலைப்படுத்தலும் இரண்டு முறைகள் ஆகும்.

வெப்ப நிலைப்படுத்துதல்

இம்முறையினில், நழுவமானது சுடரின் மேல் காண்பிக்கப்பட்டு, மென்மையாக சூடெற்றப்படுகின்றது. வெப்ப நிலைப்படுத்துதல் முறை, செல்களின் உள்ளமைப்புகளை அழிக்காமல், ஒட்டு மொத்த வடிவ அமைப்பினை பாதுகாக்கும்.



படம் 3.5: ஸ்மியரை வெப்பச் சுடரில் நிலைப்படுத்துதல்

வேதியியல் நிலைப்படுத்துதல்

இம்முறையில், மென்மையான நுண்ணுயிரிகளின் நுண்ணிய செல்லின் அமைப்புகளைப் பாதுகாக்க, நிலைப்படுத்தும் இரசாயனம் பயன்படுத்தப்படுகிறது. இதற்காக எத்தனால் (Ethanol), அசிட்டிக் அமிலம் (Acetic acid), ஃபார்மால்டிஹைடு (Formaldehyde), குளுட்டரால்டிஹைடு (Glutaraldehyde), மெர்குரிக் குளோரைடு போன்ற வேதிப்பொருள்கள் பெரும்பாலும் பயன்படுத்தப்படுகின்றது.

3.5.3 சாயமேற்கும் முறைகள்

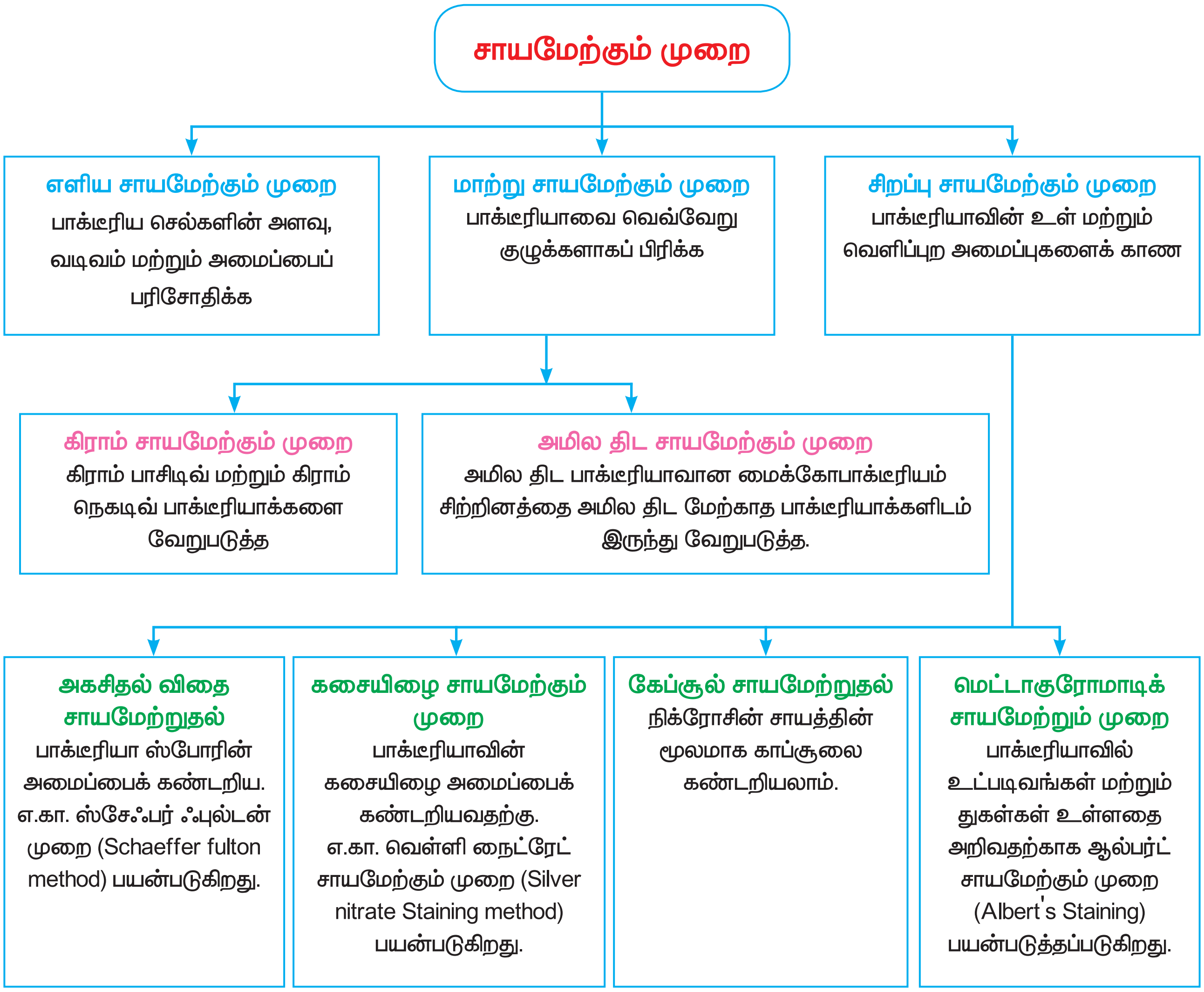
பாக்டீரியாவின் அமைப்பு மற்றும் அவற்றின் இனம் காணப் பல்வேறு வகையான சாயமேற்கும் முறைகள் உள்ளன. சில சாயமேற்கும் முறைகள் பொது நோக்கங்களுக்காகவும், சில சிறப்பு நோக்கங்களுக்காகவும் பயன்படுகின்றன. மூன்று வகையிலான சாயமேற்கும் முறைகள் உள்ளன. அவை,

i) எளிய சாயமேற்கும் முறை

ii) மாற்று சாயமேற்கும் முறை

iii) சிறப்பு சாயமேற்கும் முறை

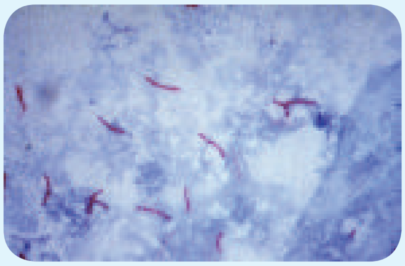
அட்டவணை 3.1 ல் பல்வேறு வகையான சாயமேற்கும் முறைகள் சுருக்கமாகக் கொடுக்கப்பட்டுள்ளன.



வழிமுறை வரைபடம் 3.1: பாக்டீரியாவின் சாயமேற்கும் முறைகளின் வகைகள்

உங்களுக்குத் தெரியுமா?

தொழு நோயை உண்டாக்கும் *மைக்கோபாக்டீரியம் லெப்ரே* என்னும் நோய்க்காரணி திடவளர் ஊடகத்தில் வளரும் தன்மையற்ற பாக்டீரியாவாகும். ஆய்வகத்தில் இந்த நோய்க்காரணியை சிறப்பான சாயமான அமில திட சாயத்தை பயன்படுத்தி முதன்மையாக கண்டறியப்படுகிறது.

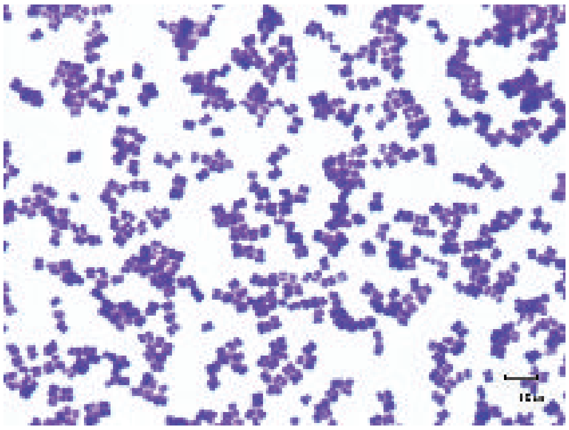


மாறுபட்ட ஜீல் நீல்சன் அமில திட சாயமேற்றும் முறையில் சாயமேற்றப்பட்ட *மைக்கோபாக்டீரியம் லெப்ரே.*

3.6 எளிய சாயமேற்கும் முறை

எளிய சாயமேற்கும் முறையில் ஒரே ஒரு சாயம் ஒருமுறை பயன்படுத்தப்படுகிறது. கண்ணாடி நழுவத்தில் நிலைப்படுத்தப்பட்ட மெல்லிய பூச்சு சுமார் ஒரு நிமிடத்திற்கு ஒரு சாயக் கரைசலில் மூழ்கப்படுகிறது. பின்னர், நீரினால் கழுவப்பட்டு கண்ணாடி நழுவத்தை வடிதாளினால் ஒற்றி உலர வைக்கப்படுகிறது. சாயமேற்றப்பட்ட நழுவம் நுண்ணோக்கியில் ஆய்வு செய்யப்படுகிறது (படம் 3.6). செல்கள் ஒரே சீராக சாயமேற்றப்படுகின்றன. நீர்த்த கரைசலான மெத்திலீன் புளூ (Methylene Blue), கிரிஸ்டல் வயலெட் (Crystal violet), சாப்ரனின் (Safranin), கார்பால் ஃபக்சின் (Carbol fuchin) போன்றவை நுண்ணுயிரியல் வல்லுனர்களால் பயன்படுத்தப்படும் எளிய சாயங்கள் ஆகும்.

மெத்திலீன் புளூ சாயமானது மற்ற எந்த சாயத்தைவிடவும் அதிகமாகப் பாக்டீரியாலஜியில் பயன்படுத்தப்படுகிறது. பாலில் உள்ள பாக்டீரியாக்களின் தொகையை விரைந்து கணக்கெடுப்பதற்கு பயன்படுத்தப்படுகிறது. இது டிப்தீரியாவைக் கண்டறியவதற்கும் பயன்படுத்தப்படுகிறது. இந்த சாயம் லாக்டோஸ் அகாரிலுள்ள ஈயோசினுடன், அசுத்த நீரில் உள்ள எஷ்செரிசியா கோலை (E. *coli*) மற்ற மல பாக்டீரியாவிலிருந்து வேறுபடுத்தி காட்ட சேர்க்கப்படுகிறது.



படம் 3.6: எளிய சாயம் – மெத்திலீன் புளூ சாயமேற்றப்பட்ட மைக்ரோகாக்கஸ் சிற்றினம்

3.7 மாற்று சாயமேற்கும் முறை

இம்முறையில் ஒன்றுக்கு மேற்பட்ட சாயம் உபயோகப்படுத்தப்படுகிறது. சில முறைகளில் சாயங்களைத்தனித்தனியாகப்பயன்படுத்தியும்வேறு சிலமுறைகளில்அனைத்துசாயங்களையும்ஒன்றாகக் கலந்து ஒரு பயன்பாட்டில் பயன்படுத்தப்படுகின்றது. மாற்று சாயமேற்கும் முறையானது பாக்டீரியாக்களை வெவ்வேறு குழுக்களாகப் பிரித்து அவற்றை இனங்கண்டுகொள்ளப் பயன்படுத்தப்படுகின்றது. நுண்ணுயிரியலில் வல்லுநர்கள் இரண்டு முக்கிய மாற்று சாயமேற்கும் முறையை உபயோகிக்கின்றனர். அவை, கிராம் சாயமேற்கும் முறை மற்றும் அமில திட சாயமேற்கும் முறையாகும். அட்டவணை 3.3ல் எளிய சாயமேற்கும் முறைக்கும் மாற்று சாயமேற்கும் முறைக்குமுள்ள வேறுபாடுகள் கொடுக்கப்பட்டுள்ளன.

3.7.1 கிராம் சாயமேற்றும் முறை

1884ம் ஆண்டு, டேனிஸ் நாட்டைச் சேர்ந்த பாக்டீரியாலஜிலிஸ்ட், ஹான்ஸ் கிரிஸ்டியன் கிராம் என்பவரால் இந்த சாய முறை உருவாக்கப்பட்டது. இது மிகவும் பயனுள்ள முறை. ஏனென்றால்,

கிரிஸ்டல் வயலெட் (முதன்மை சாயம் – Primary Stain) → அயோடின் (நிறம் நிறுத்தி – Mordant) → ஆல்கஹால்/அசிடோன் (நிறம் நீக்கி – Decolourising agent) → பேசிக் ஃபக்சின்/சாப்ரானின் (மாற்று சாயம் – Counter Stain)

TN_GOVT_XI_Micro_Biology_TAMIL_CH03.indd 32 19-02-2019 5.46.18 PM

அட்டவணை 3.3: எளிய மற்றும் மாற்று சாயமேற்கும் முறைக்கான வேறுபாடுகள்

எளிய சாயம்	மாற்று சாயம்
1. இந்த முறையில் ஒரே ஒரு சாயம் பயன்படுத்தப்படுகிறது	இதில் ஒன்றுக்கும் மேற்பட்ட சாயம் பயன்படுத்தப்படுகிறது
2. அனைத்து பாக்டீரியா செல்களும் ஒரே நிறத்தை ஏற்கச் செய்கிறது	பாக்டீரியா செல்கள் இரு வேறு நிறத்தை எற்கச் செய்கிறது.
3. எளிய சாய முறையில் பாக்டீரியா செல்லின் உருவத்தையும், வடிவத்தையும் மற்றும் அதன் அமைப்பையும் அறிவதற்காகவே பயன்படுத்தப்படுகிறது	இம்முறையில் அளவு, வடிவம் மற்றும் அமைப்பைத் தவிர பாக்டீரியாவை இரு வேறு குழுக்களாகப் பிரிக்கிறது.
எ.கா. மெத்திலீன் புளூ சாயமேற்கும் முறை	எ.கா. 1. கிராம் சாயமேற்கும் முறை 2. அமில திட சாயமேற்கும் முறை

பேராசிரியர் ஹான்ஸ் கிரிஸ்டியன் கிராம்
(செப்டம்பர் 13, 1853 – நவம்பர் 14, 1938)

1884ஆம் ஆண்டில் நிமோனியாவால் இறந்த நோயாளியிடமிருந்து பெறப்பட்ட நுரையீரல் திசுவில், குறிப்பிட்ட சாயம் கொண்டு பாக்டீரியா செல்களைப் கிறிஸ்டியன் கிராம் அவர்கள் சாயமேற்றிப் பார்த்தார். கிராம் ஒரு சாதாரண மனிதர், அவர் இம்முறையை பற்றிய ஆய்வுக் கட்டுரையினை வெளியிடுகையில் இவ்வாறு குறிப்பிட்டுள்ளார். "நான் ஒரு முறையை வெளியிட்டுள்ளேன். இம்முறையானது குறைபாடுடையதாகவும் சரியானதாகவும் இல்லை, ஆனால் பிற ஆய்வாளர்களின் கைகளில் இது பயனுள்ளதாக மாறும் என்று நான் நம்புகிறேன்" என்று கூறியுள்ளார். கிராம், மாற்று சாயமாக பிஸ்மார்க் பழுப்பைப் பயன்படுத்தினார். சில ஆண்டுகளுக்குப் பின்னர் ஜெர்மன் நாட்டைச் சேர்ந்த நோயியியல் நிபுணர் கார்ல் வேகஸ்ட் (1845–1904) சாப்ரனின் என்னும் மாற்று சாயத்தைப் பயன்படுத்தி இச்சாயமேற்கும் முறைக்கு இறுதி வடிவத்தைக் கொடுத்தார்.

இச்சாயமுறையின் மூலம் பாக்டீரியாக்களை கிராம் பாசிடிவ் மற்றும் கிராம் நெகடிவ் என்று இரண்டு பெரிய குழுக்களாகப் பிரிக்கிறது. கிராம் சாயமேற்கும் முறையில், நிலையான பாக்டீரியலில் மெல்லிய பூச்சு கீழ்க்கொடுக்கப்பட்டுள்ள வரிசையில் உள்ள சாயங்களை வினை புரியச் செய்யுமாறு செய்யப்படுகின்றன.

முதல் சாயத்தை ஏற்றுக்கொண்ட பாக்டீரியாவிற்கு கிராம் பாசிடிவ் என்றும், நிறம் நீக்கி மூலம் முதன்மைச் சாயத்தை இழந்து மாற்று சாயத்தை ஏற்கும் பாக்டீரியாவிற்கு கிராம் நெகடிவ் என்றும் அழைக்கப்படுகின்றன.

நிறம் நிறுத்தி (Mordant) : நிறம் நிறுத்தி என்பது சாயம் அல்ல. இவை உயிரியியல் வகை மாதிரியின் சாயம் ஈர்க்கும் திறனை அதிகரிக்க முக்கியமானது. சில சாயங்கள் நிறம் நிறுத்தியின் உதவியுடன் மட்டும் தான் செல்களையும் செல் அமைப்புகளையும் சாயமேற்கிறது. முதலில் நிறம் நிறுத்தி (Mordant) செல்லிலும் அல்லது செல் அமைப்பில் ஒட்டிக்கொண்டு, பின்பு சாயத்துடன் இணைந்து கரையாத கூட்டுப் பொருளை உருவாக்கி நிறத்தைச் செல்களில் நிலைக்கச் செய்கிறது.

3.7.2 கிராம் சாயமேற்றுதலின் செய்முறை

கிராம் சாயமேற்கும் முறையானது நான்கு படிநிலைகளைக் கொண்டுள்ளது.

படி நிலை 1: வெப்பத்தினால் நிலைநிறுத்தப்பட்ட மெல்லிய பூச்சியின் மீது கார சாயமான (எடுத்துக்காட்டு: கிரிஸ்டல் வயலெட்) ஊற்றப்படுகிறது. இந்த சாயம் அனைத்து

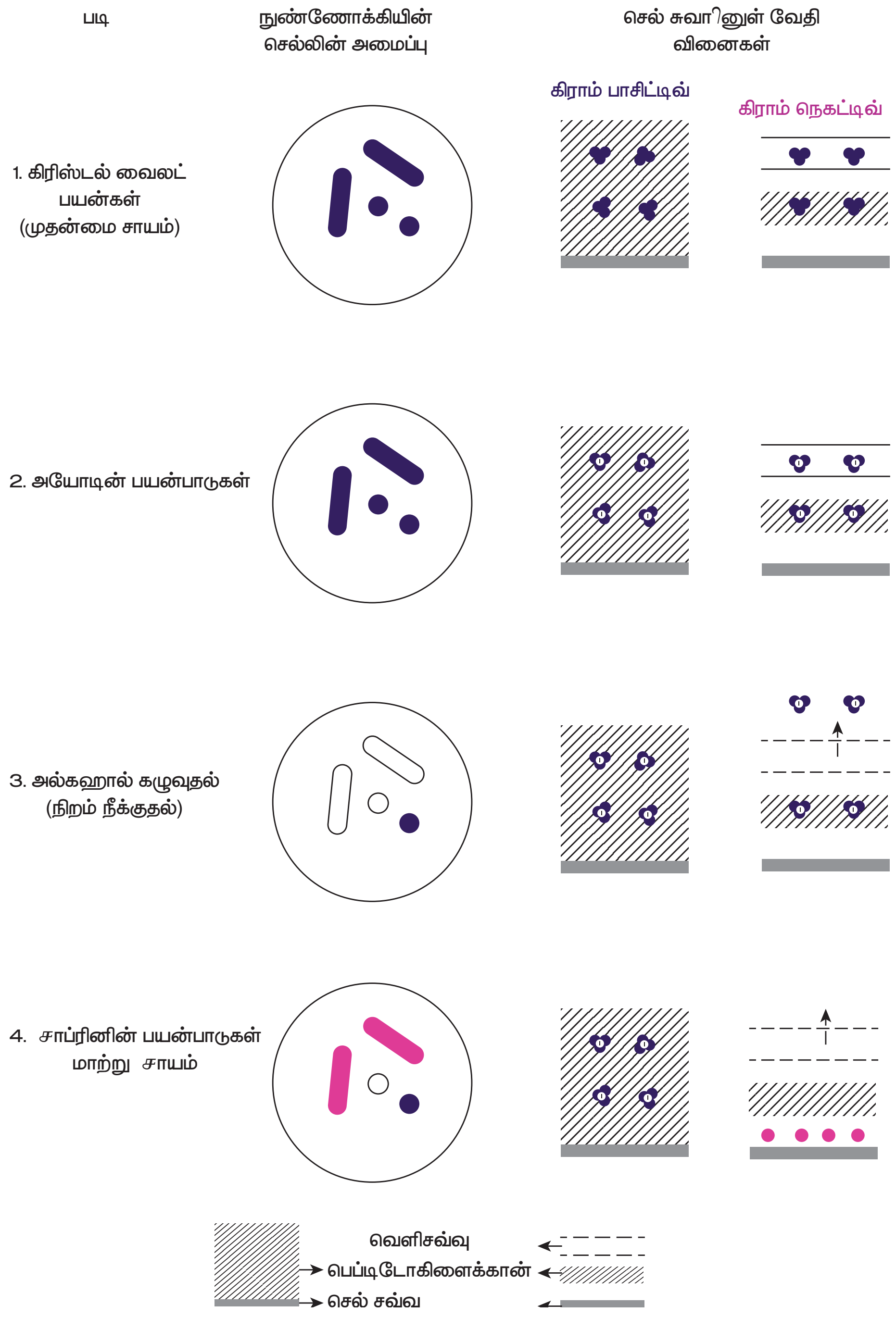
TN_GOVT_XI_Micro_Biology_TAMIL_CH03.indd 33 19-02-2019 5.46.18 PM

செல்களுக்கும் அதன் நிறத்தை அளிக்கிறது. இதனை முதலில் பயன்படுத்துவதால் இது முதன்மை சாயம் என்று குறிப்பிடபடுகிறது.

படி நிலை 2: சில நேரத்திற்குப் பிறகு நழுவமானது கழுவப்பட்டு, மெல்லிய பூச்சு மேல் நிறம் நிறுத்தியான அயோடின் ஊற்றப்படுகிறது. இந்நிலையில் கிராம் பாசிட்டிவ், கிராம் நெகட்டிவ் பாக்டீரியாக்கள் அடர்ந்த ஊதாவாக காணப்படும்.

படி நிலை 3: பின்பு நழுவம் ஆல்கஹால் அல்லது அசிடோன் ஆல்கஹாலால் நிறம் நீக்கம் செய்யப்படுகிறது. நிறம் நீக்கியான இந்த கரைசல் சில சிற்றின செல்லிலிருந்து முதன்மை சாயத்தை அகற்றுகிறது.

படி நிலை 4: நழுவமானது நிற நீக்கியதற்கு பிறகு உடனடியாக கழுவப்பட்டு, மாற்றுச் சாயமான பேஸிக் ஃபக்சின் அல்லது சாப்ரனின் கொண்டு சாயம் ஏற்றப்படுகிறது. மெல்லிய பூச்சு மீண்டும் கழுவப்பட்டு வடிதாளினால் உலர வைத்து நுண்ணோக்கியில் உற்று நோக்கப்படுகிறது (படம் 3.7).



படம் 3.7: பாக்டீரியா கிராம் சாயமேற்றுதலின் படிநிலைகள், நுண் வரைபடம் மற்றும் வேதியியல் வினைகள்

3.7.3 கிராம் சாயமேற்கும் முறையின் அடிப்படைத் தத்துவம்

இந்த சாயமேற்று நுட்ப செயல்பாட்டின், சரியான இயக்க முறையை புரிந்துகொள்ள முடியவில்லை. ஆயினும், பெரும்பாலாக ஏற்றுக்கொள்ளப்பட்ட விளக்கங்கள், செல் சுவரின் அமைப்பு மற்றும் செல் சுவரில் உள்ள பகுதிப் பொருள்களுடன் தொடர்பு கொண்டுள்ளன. கிராம் பாசிட்டிவ் பாக்டீரியாக்கள், கிராம் நெகட்டிவ் பாக்டீரியாவின் செல் சுவரைவிட தடிமனான பெப்டிடோகிளைக்கானைப்பெற்றுள்ளது. பெட்டிடோகிளைக்கான் என்ற மூலக்கூறு டைசாக்கரைடும் அமினோ அமிலங்களையும் கொண்டுள்ளன. படம் 3.8 கிராம் பாசிட்டிவ் மற்றும் கிராம் நெகட்டிவ் செல் சுவரின் அமைப்பை படமாக்கிக் காட்டுகிறது. கூடுதலாக கிராம் நெகடிவ் பாக்டீரியாவின் செல்சுவரின் ஒரு பகுதியான மெல்லிய பெப்டிடோகிளைக்கான் உறையும், மேலும் கொழுப்பினாலான லிப்போபாலிசாக்கிரைடு – வெளி உறையால் சூழப்பட்டுள்ளது. லிப்போபாலிசாக்ரைடு கொழுப்புகளாகவும் பாலி சாக்ரைடுகளாகவும் ஆனவை.

கிரிஸ்டல் வயலெட்டையும் அதனை தொடர்ந்து அயோடின் கரைசலையும் கிராம் பாசிட்டிவ் மற்றும் கிராம் நெகட்டிவ் செல்களில் பயன்படுத்தும்போது அவை இணைந்து கிரிஸ்டல் வயலெட் – அயோடின் (CV–I) கூட்டுப்பொருளை உருவாக்குகிறது. லிபிட் குறைவாக உள்ள கிராம் பாசிடிவ் பாக்டீரியாக்களின் செல்சுவர் ஆல்கஹாலின் செயலால் நீரிழக்கிறது. துளை அளவு குறைவதால் ஊடுருவும் திறனும் குறைகிறது. எனவே, CVI கூட்டுப்பொருள் வெளியேற இயலாததால் செல்கள் ஊதா நிறத்திலேயே உள்ளது.

உயர் சிந்தனை கேள்விகள்

1. கிராம் சாயமேற்கும் முறையில் அயோடின் பயன்பாட்டைத் தவிர்த்தால், கிராம் பாசிடிவ் மற்றும் கிராம் நெகடிவ் பாக்டீரியாக்கள் என்ன நிறம் ஏற்றுக் கொள்ளும் என்று நீங்கள் எதிர்பார்க்கிறீர்கள்.

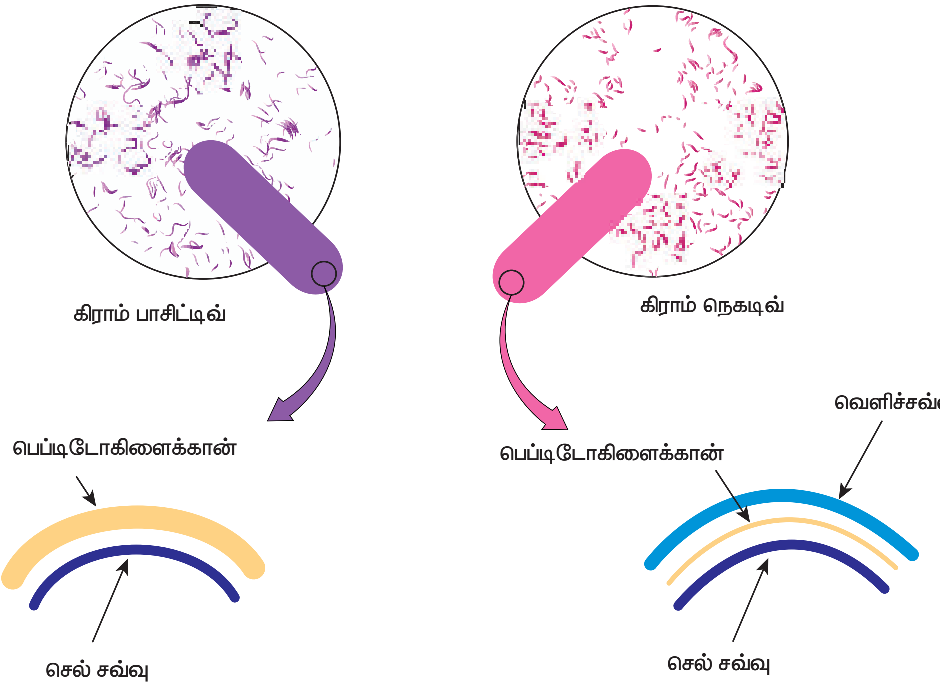
    அ) கிராம் பாசிட்டிவ் : இளஞ்சிவப்பு
    கிராம் நெகடிவ் : ஊதா

    ஆ) கிராம் பாசிட்டிவ் : ஊதா
    கிராம் நெகடிவ் : இளஞ்சிவப்பு

    இ) கிராம் பாசிட்டிவ் : ஊதா
    கிராம் நெகடிவ் : ஊதா

    ஈ) கிராம் பாசிட்டிவ் : இளஞ்சிவப்பு
    கிராம் நெகடிவ் : இளஞ்சிவப்பு

2. கிராம் சாயமேற்கும் முறை, ஒருபடி தவிர்க்கப்பட்டாலும் கிராம் பாசிடிவ் மற்றும் கிராம் நெகடிவ் செல்களை வேறுபடுத்த முடியும். அது எந்தப் படி



படம் 3.8: கிராம் பாசிட்டிவ் மற்றும் கிராம் நெகட்டிவ் செல்சுவர்

TN_GOVT_XI_Micro_Biology_TAMIL_CH03.indd 35 19-02-2019 5.46.19 PM

கிராம் நெகட்டிவ் பாக்டீரியாவின் செல்சுவர் ஆல்கஹாலின் செயல்பாட்டினால் அதிலுள்ள லிபிட் கரையப்படுகிறது. இதனால் செல்சுவரின் துளை அளவு அல்லது ஊடுருவும் திறன் அதிகரிக்கின்றது. இதன் காரணமாக CVI கூட்டுப்பொருள் வெளியேற்றப்பட்டு பாக்டீரியாக்கள் நிறமற்றதாகிறது. இந்த செல்கள் பின்னர் மாற்று சாயமான பேஸிக் ஃபக்சின் அல்லது சாப்ரனின் நிறத்தை ஏற்று சிவப்பிலிருந்து இளஞ்சிவப்பு நிறமாக தோன்றுகிறது.

தகவல் துளி

கிராம் சாயமேற்றும் முறையில் திருந்திய நிலைகள் உள்ளன.

- கோபிலோப் மற்றும் பீர்மென்ஸின்–திருந்திய நிலை
- ஜென்செனின்ஸ் திருந்திய நிலை
- வெக்டெர்ட்ஸ்ஸின் திருந்திய நிலை
- பிரஸ்டன் மற்றும் மாரல்சினின் திருந்திய நிலை

3.7.4 கிராம் சாயமேற்கும் முறையின் முக்கியத்துவம்

இது கடந்த நூற்றாண்டின் பழைமையான சாயமேற்கும் முறைதான் என்றாலும் கிராம் சாயமேற்கும் முறை பாக்டீரியாவை வகைப்படுத்தலுக்கும் இனங் காணுவதற்கும் உலகளாவிய முறையாக உள்ளது. விரிவான மற்றும் விலையுயர்ந்த மருத்துவத் தொழில் நுட்பங்கள் இந்தக் காலகட்டத்தில் இருந்தாலும், கிராம் சாயமேற்கும் முறையானது, செலவு குறைவான சிறந்த முறையாக உள்ளது. நுண்ணுயிரியல் ஆய்வகத்தில், நோய் உண்டாக்கும் நோய்க்கிருமிகளைக் கண்டறிய பயன்படுத்தப்படுகின்றது .

கிராம் சாயமேற்கப்பட்ட பாக்டீரியாவை ஆய்வு செய்வதின் மூலம் பாக்டீரியானது வகைப்படுத்துவதற்கும், அடையாளம் காண்பதற்கும் மற்றும் பண்புகளை அறிய அடிப்படையை வழங்குகிறது. மருத்துவ வகை மாதிரிகளில் கிராம் சாயமேற்றுவதினால் நோய் காரணியை இனங்காண முதன்மை அறிகுறியை மட்டுமே அளிக்கிறது அட்டவணை 3.4ல் நோயுண்டாக்கும் சில பாக்டீரியாக்களில் கிராம் தன்மை கொடுக்கப்பட்டுள்ளன.

மருத்துவ வகை மாதிரிகள் அல்லது ஊடக வளர்ப்புத் தட்டில் உள்ள நுண்ணுயிர்களை கிராம் சாயமேற்றுதல் முறையில் கண்டறிவதன் மூலம் நோயாளிகளுக்கு மிகவும் பயனுள்ள ஆன்டிபயாடிக் தீர்மானிக்கப்பட்டு விரைந்து சிகிச்சை அளிக்கப்பட முக்கியத்துவம் வாய்ந்ததாக உள்ளன.

3.8 சிறப்பு சாயமேற்கும் முறை – அகசிதல் விதை சாயமேற்கும் முறை

அக சிதல் விதை (எண்டோஸ்போர்கள்) என்பது சாதகம் இல்லாத சுற்றுச்சூழல்களில் பாக்டீரியாக்களால் உருவாக்கப்படும் மிகவும் தாக்கு பிடிக்கின்ற அமைப்பு ஆகும். காற்று சுவாசியான *பேசில்லஸ்* பேரினத்திற்கும் காற்றில்லாச் சூழ்நிலையில் வாழும் *கிளாஸ்ட்ரீடியம்* பேரினத்திற்கும் அகசிதல் விதை உருவாகுதல் ஒரு தனிச் சிறப்பான பண்பாகும்.

அட்டவணை 3.4: நோயுண்டாக்கும் சில பாக்டீரியாக்களின் கிராம் வினைகள்

	கிராம் – பாசிடிவ்	கிராம் – நெகடிவ்
காக்கை (கோள வடிவம்)	*ஸ்டெபைலோகாக்கஸ் ஆரியஸ் ஸ்ட்ரெப்டோகாக்கஸ் பையோஜீன்ஸ்*	*நெய்ஸீரியா கொனீரியா*
குச்சி வடிவ பாக்டீரியா (Bacilli)	*பேஸில்லஸ் ஆந்தராசிஸ், கார்னிபாக்டீரியம் டிப்தீரியே, கிளாஸ்ட்ரிடியம் டெட்டனை, மைக்கோபாக்டீரியம் டியுபர்குளோசிஸ்*	*எஷ்செரிசியா கோலை, ஷிகெல்லா, சால்மோனெல்லா, சூடோமோனாஸ் எரோஜினோசா*
ஸ்பைரோகீட்ஸ்	––	*லெப்டோஸ்பைரா, டிரிப்போனிமா*

TN_GOVT_XI_Micro_Biology_TAMIL_CH03.indd 36 19-02-2019 5.46.19 PM

படம் 3.9: வெஜிடேட்டிவ் செல்களில் சிதல் விதைகளின் இருப்பிடம்

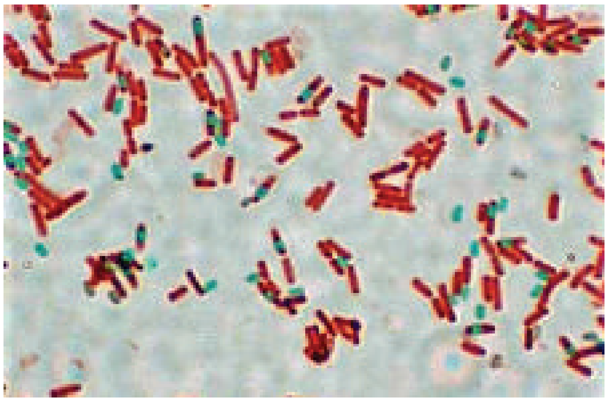
ஒரு சிற்றினத்தினுடைய எண்டோஸ்போரின் அளவு, வடிவம் மற்றும் ஸ்போர் அமைந்துள்ள இடம் அனைத்தும் நிலையானது. இவை பேரினங்களில் உள்ள சிற்றினங்களை அடையாளம் காண மிகவும் முக்கியமானது.

செல்லில் உள்ள ஸ்போரின் இருப்பிடம் நுனியிலோ, மத்தியிலோ அல்லது நுனிக்கு சற்றுக் கீழேயோ காணப்படலாம். படம் 3.9ல் ஸ்போரின் இருப்பிடம் கொடுக்கப்பட்டுள்ளது.

சாதரண சாயமேற்று முறைகளான எளிய மற்றும் கிராம் சாயமேற்றுவதினால் அகசிதல் விதைகளை சாயமேற்ற முடியாது. சாயமானது எண்டோஸ்போரின் செல் சுவரினுள் புகாது. சாதரணமான சாயத்தைப் பயன்படுத்தினால், பேசில்லஸின் வெஜிடேட்டிவ் பகுதி அடர்ந்த நிறமாகிறது. ஆனால், சிதல்விதை (ஸ்போர்) சாயமேற்காமல் அது உயிரியின் தெளிவான இடமாகத் தோன்றும். நிறம் நீக்கும் காரணிகளைப் பயன்படுத்தினாலும் அவை நிறத்தைத் தக்க வைத்துக் கொள்ள உதவும்.

பொதுவாக எண்டோஸ்போரை சாயமேற்ற சசே்ஃபர்ஃபுல்டன் அகசிதல் விதை சாயமேற்கும் முறை பயன்படுத்தப்படுகிறது. வெப்பத்தினால் நிலைநிறுத்தப்பட்ட மெல்லிய பூச்சின் மேல் முதன்மை சாயமான மலாக்கிட் பச்சையை (Malachite Green) ஊற்றி, ஐந்து நிமிடங்கள் நீராவி நிலையில் வைத்திருக்க வேண்டும். வெப்பமானது சாயத்தை எண்டோஸ்போரினுள் ஊடுருவிச் செல்ல உதவுகிறது. பின்னர் தயாரிப்பானது நீரினால் 30 விநாடிகள் கழுவப்படுகிறது. பிற பாகங்களைச் சாயமேற்ற மாற்று சாயமான சாப்ரனின் மெல்லிய பூச்சின் மேல் ஊற்றப்படுகிறது.

சரியாக தயாரிக்கப்பட்ட மெல்லிய பூச்சுயில் அகசிதல் விதைகள் சிவப்பு செல்களுக்குள் பச்சை நிறத்தில் காணப்படும். அகசிதல் விதைகள் அதிக ஒளி விலகல் கொண்டவை. அவைகள் சாயமேற்றப்படாமலே ஒளி நுண்ணோக்கியில் காணலாம். ஆனால் சிறப்பு சாயம் இல்லாமல் மற்ற சேமிப்பு உள்பொருள்களிலிருந்து வேறுபடுத்த முடியாது.



படம் 3.10: சசே்ஃபர்ஃபுல்டன் அகசிதல் விதை சாயமேற்கும் முறை–ஸ்போரானது பச்சை நிறத்திலும் உடல் செல்கள் இளம் சிவப்பு நிறத்திலும் காணலாம்.

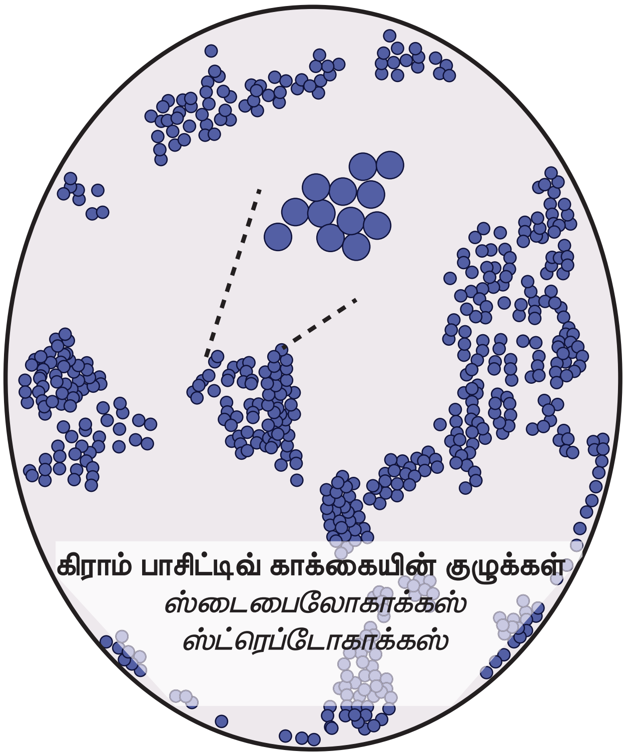
3.9 பொதுவாகப் பயன்படுத்தப்படும் சாயங்கள்

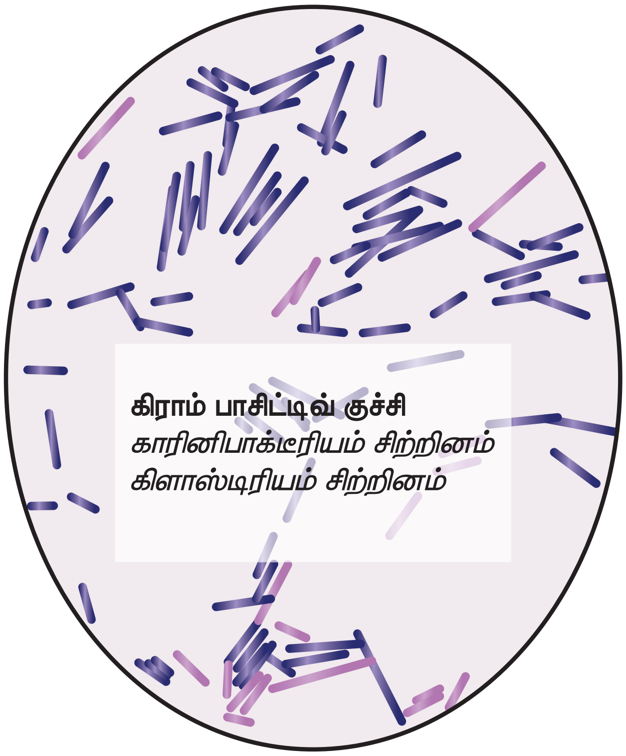
பூஞ்சைகளை சாயமேற்ற லாக்டோபீனால் காட்டன் புளு (Lactophenol cotton blue) பயன்படுத்தப்படுகிறது. ஜிம்சா சாயம் என்பது ஒரு ரோமனோஸ்கி சாயம். இச்சாயம் அதிகபட்டசமாக நுண்ணுயிரியல் ஆய்வகத்தில், இரத்தம் மற்றும் இரத்தத்தில் உள்ள ஒட்டுண்ணிகளை(மலேரியாஒட்ண்ணி)சாயமேற்க பெரும்பான்மையாக பயன்படுத்தப்படுகிறது. நேரடியாக பூஞ்சைகளை திசுக்களில் அல்லது வளர்ச்சி ஊடகத்திலோ சாயமேற்க கால்கோபுலோர் வெள்ளைச் சாயம் (Calcofluor white stain) பொதுவாக பயன்படுத்தப்படுகிறது.

ஒளி நுண்ணோக்கியில் கிராம் சாயமேற்கும் முறையில் சாயமேற்றப்பட்ட பாக்டீரியாவை இனங்கான கடினமாக உள்ள நிலையில் இரத்த வளர்ச்சி கலவையில் இருக்கும் பாக்டீரியாக்களை உறுதி செய்ய அக்ரிடின் ஆரஞ்சு (Acridine Orange) சாயம் பயன்படுத்தப்படுகிறது. இச்சாயம் நியூக்ளிக் அமிலத்துடன் இணைந்து அவைகளை சாயமேற்றுகிறது. இது செல்சுவரற்ற பாக்டீரியாவை கண்டறிய பயன்படுத்தப்படுகின்றது. எ.கா –மைக்கோபிளாஸ்மா

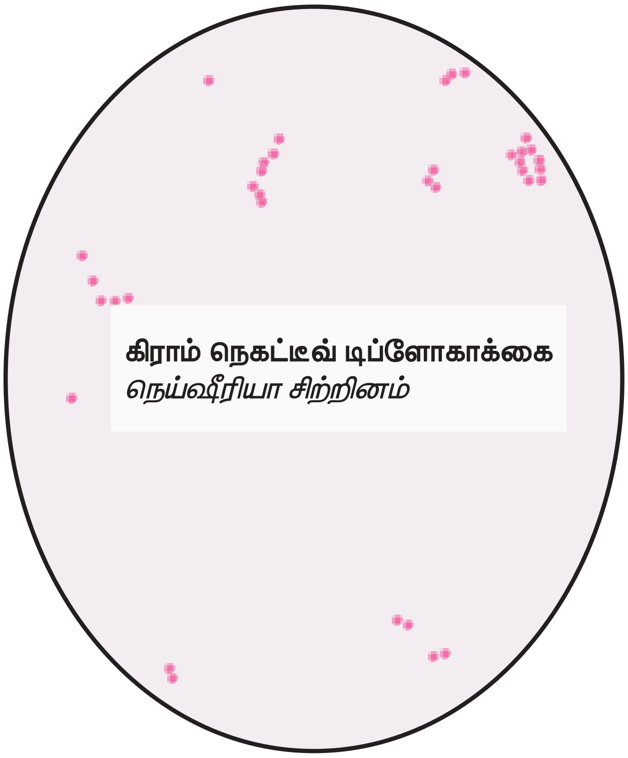
புளோரசன்ட் நுண்ணோக்கியினால் வகை மாதிரியில் உள்ள பாக்டீரியாக்களைக் கண்டறிய எளிதில் கிடைக்கக்கூடிய அராமைன் – ரோடமின் போன்ற ஃபுளோரோகுரோம் சாயங்கள் பயன்படுத்தப்படுகிறது.

TN_GOVT_XI_Micro_Biology_TAMIL_CH03.indd 37 19-02-2019 5.46.20 PM


கிராம் பாசிட்டிவ் காக்கையின் குழுக்கள்
ஸ்டைபைலோகாக்கஸ்
ஸ்ட்ரெப்டோகாக்கஸ்


கிராம் பாசிட்டிவ் குச்சி
காரினிபாக்டீரியம் சிற்றினம்
கிளாஸ்டிரியம் சிற்றினம்

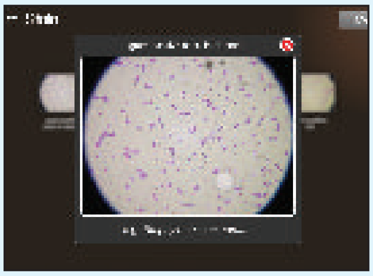
கிராம் நெகட்டீவ் குச்சி
கிளப்சில்லா சிற்றினம்
ஈகோலை


கிராம் நெகட்டீவ் டிப்ளோகாக்கை
நெய்ஷீரியா சிற்றினம்

இணையச் செயல்பாடு

கிராம் சாயமேற்றும் முறை

கிராம் சாயமேற்றும் முறையினை அறிக

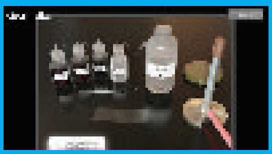


படிகள்:

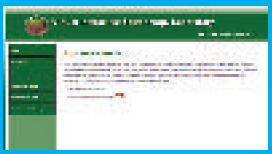
- ➢ 'Virtual Interactive bacteriology laboratory' பக்கத்திற்குச் செல்ல URL ஐப் பயன்படுத்துக அல்லது QR குறியீட்டை ஸ்கேன் செய்க.
- ➢ 'Module' என்பதைக் கிளிக் செய்து, 'steps' தேர்ந்தெடுத்து பின்பற்றும் வழிமுறைகளைப் படிக்கவும்.
- ➢ 'Gram Stain' செயல்முறைக்குச் செல்ல, 'start' தேர்ந்தெடுத்து பின்பற்றும் வழிமுறைகளைப் படிக்கவும்.
- ➢ நுண்ணோக்கி மூலம் கீழ் Bunsen பர்னர் மற்றும் பார்வை கொண்டு உலர் மற்றும் வெப்பம் சரி செய்ய, ஸ்லைடு விட்டு பார்வையிடவும்.

உற்றுநோக்கல்:–

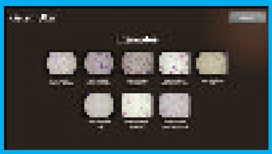
- ✓ மற்ற எடுத்துக்காட்டுகளைத் தேர்வு செய்து உங்கள் உற்றுநோக்கலைப் பதிவு செய்யவும் : Gram +ve and Gram –ve bacterial stains.



படி: 1



படி: 2



படி: 3

படி: 4

உரலி

https://www.cellsalive.com/toc_micro.htm

TN_GOVT_XI_Micro_Biology_TAMIL_CH03.indd 39 19-02-2019 5.46.21 PM

சுருக்கம்

சாயமேற்றுதல் மூலம் ஒளி ஊடுருவக்கூடிய தெளிவான புரோட்டோபிளாசப் பொருளைக் கொண்டுள்ள பாக்டீரியாக்களைத் தெளிவாகப் பார்க்க முடிகின்றது. பாக்டீரியா செல்லின் மீது சாயம் ஒட்டிக்கொள்வதன் மூலம் செல்லுக்கு நிறத்தைக் கொடுக்கின்றது. வேதியியல் தன்மை அடிப்படையில் சாயங்களை அமிலத் தன்மை, காரத்தன்மை மற்றும் நடுநிலைத்தன்மை என்று வகைப்படுத்தலாம். சாயமேற்கும் முறைகளின் அடிப்படையில் எளிய சாயம், மாற்று சாயம் மற்றும் சிறப்பு சாயமேற்கும் முறைகள் என்று வகைப்படுத்தலாம். எளிய சாயமேற்கும் முறையில் ஒரு சாயத்தை மட்டும் பயன்படுத்தி நுண்ணுயிரின் வடிவம் மற்றும் முழு அளவைப் பார்க்க முடியும். ஒன்றுக்கு மேற்பட்ட சாயங்களைப் பயன்படுத்தும் மாற்று சாயமேற்கும் முறையில் நுண்ணுயிரின் அமைப்பை மட்டுமின்றி அவற்றை வகைப்படுத்தவும் உதவுகிறது. மாற்று சாயமேற்கும் முறையான கிராம் சாயமேற்கும் முறையில் பாக்டீரியாக்களை கிராம் பாசிட்டிவ் மற்றும் கிராம் நெகடிவ் பாக்டீரியா என்று வகைப்படுத்த முடியும். சிறப்பு சாயங்களின் ஒன்றான அகசிதல் விதை சாயமேற்கும் முறையில் பாக்டீரியாவின் ஸ்போர்களைக் கண்டறியப் பயன்படுத்தப்படுகின்றது.

சுய மதிப்பீடு

சரியான விடையைத் தேர்ந்தெடுக்கவும்

1 ________________ சாயம் எதிர்மின் சுமை கொண்டது.

அ) கார சாயம்

ஆ) அமில சாயம்

இ) நடுநிலை சாயம்

ஈ) இவற்றில் எதுவுமில்லை

2 ________________ சாயம் லாக்டோஸ் அகாரிலுள்ள ஈயோசினுடன் சேர்ந்து அசுத்த நீரிலுள்ள ஈ. கோலை பாக்டீரியாக்களை இனங்கான பயன்படுத்தப்படுகிறது.

அ) கிரிஸ்டல் வயலெட்

ஆ) ஆஸிட்ஃபக்சின்

இ) மெத்திலின் புளூ

ஈ) சாப்ஃரனின்

3 கீழ்க்கண்டவற்றில் எது எதிர்மின்சுமை சாயம் இல்லை ________________?

அ) சாப்ஃரனின்

ஆ) ஈயோசின்

இ) ரோஸ் பென்கால்

ஈ) ஆஸிட்ஃபக்சின்

4 கிறிஸ்டியின் கிராம் எந்த வருடம் ஒரே வெளித்தோற்றமுள்ள பாக்டீரியாக்களை வேறுபடுத்திக் காட்டும் முறையைக் கண்டு பிடித்தார்?

அ) 1857 ஆ) 1880

இ) 1884 ஈ) 1881

5 எதிர்சாய முறையில் நுண்ணுயிர் செல்லுக்கு சாயமேற்ற ________________ சாயம் பயன்படுத்தப்படுகிறது.

அ) நிக்ரோசின் மற்றும் ஆசிட் பாக்சின்

ஆ) ரோஸ்பென்கல் மற்றும் மாலகென்ட்கிரின்

இ) சாப்ரனின் மற்றும் ஈயோசின்

ஈ) நிக்ரோசின் மற்றும் இண்டியன் இங்க்

6 கிராம் சாயமேற்கும் முறையில் ________________ நிறம் நிறுத்தியாகப் பயன்படுத்தப்படுகிறது.

அ) அயோடின்

ஆ) கிரிஸ்டல் வயலெட்

இ) மெத்திலின் புளூ

ஈ) சாப்ரனின்

7 கீழ்க்கொடுக்கப்பட்டுள்ள ஜோடிகளில் எது பொருத்தமற்றது ________________?

அ) கேப்சூல் – எதிர்மறைசாயம்

ஆ) செல் அமைப்பு – எளிய சாயம்

இ) செல் அளவு – ஆல்பர்ட் சாயம்

ஈ) பாக்டீரியா – கிராம் சாயம் கண்டறிதல்

8 கிராம் சாயமேற்கும் முறையில் பின்வரும் வரிசைமுறையில் சாயங்கள் கொடுக்கப்படுகின்றன

அ) சாப்ரினின், ஆல்கஹால், மெத்திலின் புளூ, அயோடின்

ஆ) கிரிஸ்டல் வயலட், அயோடின், ஆல்கஹால், சாப்ரினின்

TN_GOVT_XI_Micro_Biology_TAMIL_CH03.indd 40 19-02-2019 5.46.21 PM

இ) மெத்திலின் புளூ, ஆல்கஹால், அயோடின், சாப்ரினின்

ஈ) கிரிஸ்ட் வயலட், ஆல்கஹால், அயோடின், சாப்ரினின்

9. ஸ்சேஃபர் ஃபுல்டன் சாயமேற்கும் முறையில் ________________ காணப்படுகிறது

அ) இளஞ்சிவப்பு பாக்டீரியா செல்லினுள் ஸ்போர்கள் பச்சையாக

ஆ) பச்சை நிற பாக்டீரியா செல்லினுள் ஸ்போர்கள் இளஞ்சிவப்பாக

இ) இளஞ்சிவப்பு பாக்டீரியா செல்லினுள் ஸ்போர்கள் நிறமற்றதாக

ஈ) பச்சை நிற பாக்டீரியா செல்லினுள் ஸ்போர்கள் நிறமற்றதாக

பின்வரும் வினாக்களுக்கு விடை தருக

1. சாயம் வரையறு
2. கார சாயங்களுக்கு எடுத்துக்காட்டுத் தருக.
3. வெப்ப நிலைப்படுத்துதலின் முக்கியத்துவத்தைக் கூறுக?
4. அகசிதல் விதை என்றால் என்ன?
5. சாயம் மற்றும் டைக்குக்கான வேறுபாடுகளை எழுதுக.
6. கிராம் பாசிடிவ் பாக்டீரியாக்களைப் பட்டியலிடுக.
7. கிராம் சாயமேற்கும் முறையில் மாற்று சாயம்நிறம் நீக்கியின் பயன்பாடு என்ன?
8. கிராம் சாயமேற்கும் முறையில் பின்வரும் அட்டவணையை நிரப்பவும்

படிகள்	இந்த நடவடிக்கைக்குப் பிறகு தோற்றம்	
	G + செல்கள்	G – செல்கள்
கிறிஸ்டில் வயலட்		
அயோடின்		
ஆல்கஹால்		
சாப்ரினின்		

9. எதிர்மறை சாயமேற்கும் முறை என்றால் என்ன?
10. சாயமேற்றுதலின் பயன்கள் யாவை?
11. எளிய சாயமேற்கும் முறைக்கும் மாற்று சாயமேற்கும் முறைக்கும் உள்ள வேறுபாடுகள் யாவை?
12. அமில சாயம் என்றால் என்ன? எ.கா தருக.
13. ஏன், கார சாயங்கள் பாக்டீரியாவின் செல்லை சாயமேற்கச் செய்கிறது. ஏன், அமில சாயங்களால் அதைச் செய்ய இயலவில்லை?
14. என்ன நோக்கத்திற்காக நீங்கள் பின்வரும் சாயங்களைப் பயன்படுத்துவீர்கள்?

    அ) எளிய சாயம் ஆ) எதிர்மறை சாயம்

    இ) அமில திட சாயம் ஈ) கிராம் சாயம்
15. கிராம் சாயமேற்கும் முறையை மிக முக்கியமான சாயமுறை என்று, நுண்ணுயிர் வல்லுநர்கள் விவரிப்பது ஏன் என்பதை விவரி?
16. சாயமேற்றுதலின் தேவையை நீங்கள் எவ்வாறு விவரிப்பீர்கள்?
17. தேவைகளின் அடிப்படையில் சாயமேற்கும் முறைகளை எவ்வாறு வகைப்படுத்தலாம்?
18. கிராம் சாயமேற்கும் முறையின் அடிப்படைத் தத்துவத்தை விளக்குக.
19. படத்தின் வாயிலாக கிராம் சாயமேற்கும் முறையை விளக்குக
20. அகசிதல் விதை எவ்வாறு பார்க்கப்படுகிறது?

மாணவர் செயல்பாடு

ஈர ஏற்றம் மற்றும் சாயமேற்றுதல் முறைகளைப் பயன்படுத்தி நுண்ணுயிரிகளைக் கண்டறியுங்கள்.

TN_GOVT_XI_Micro_Biology_TAMIL_CH03.indd 41 19-02-2019 5.46.21 PM