

Segunda contribución al estudio de las dobles coloraciones diferenciales obtenidas con un solo colorante

POR

AUGUSTO C. SCALA

Profesor de Botánica de las Universidades Nacionales de Buenos Aires y La Plata

El 22 de Febrero de 1911 apareció en los *Anales del Museo Nacional de Buenos Aires* (*), mi primera contribución al estudio de las dobles coloraciones, que utilizando soluciones muy diluidas de diversos colorantes de anilina, producen, en los cortes por ellas tratados, dos tonos de color perfectamente distintos y nítidos, que además de colorearles con claridad sorprendente, permiten localizar y distinguir las zonas lignificadas y las celulósicas, permitiendo en tal forma ejecutar un gran número de observaciones en un límite de tiempo mínimo.

En aquella fecha hice extensivo el estudio a diez colorantes anilínicos ocho de los cuales: *safranina*; *azul de metileno*; *cristal violeta*; *verde de iodo*; *rosanilina*; *verde metilo*; *violeta de genciana* y *fuchsina*, usando soluciones de 0,20 a 0,50 % acuosas, diluyendo a su vez dos gotas de éstas en 15 gotas de agua, coloreaban muy bien los cortes y con carácter diferencial; al paso que dos de ellos: *Coralina* y *Orange G*, no teñían sino superficialmente, pues un lavado rápido en agua destilada, arrastraba en absoluto todo el color.

Prometía al propio tiempo (p. 157 in fine) hacer extensivo dicho estudio a otra serie de unos veinte colorantes, cuyos ensayos había comenzado, pero que debí interrumpir por múltiples motivos y que tan sólo hoy, después de catorce años he podido continuar, y ofrecer al Dr. Porter quien, desde entonces, no dejó de recordarme el compromiso contraído y que cumplo con verdadero placer.

(*). Tomo XXII (Serie 3.a t. XV) pp. 147 a 157.

Esta nueva serie consta de doce colorantes, de las mejores marcas, utilizados diariamente en la técnica y son los siguientes:

Pironina; Eritrosina; Metil violeta B; Verde brillante; Verde malaquita; Rojo Congo; Violeta de metileno; Rosaurina G; Deltapurpurina; Azul de algodón; Crisoidina y Purpurina.

De todos ellos, la *Eritrosina* no toma en absoluto en los cortes, actuando como la *Coralina* y el *Orange G* del primer grupo estudiado y la *Purpurina* que tan sólo toma en la cutícula y capas cuticulares de la epidermis, por cuya razón la considero de precioso recurso en la determinación y reconocimiento de estas capas, cuyas coloraciones se asemejan a las de las demás partes y no son por tanto netamente diferenciables.

Técnica: Todos los colorantes nombrados se han usados en la misma proporción de dilución, haciendo soluciones de 0,20 gramos (veinte centígramos) en cien centímetros cúbicos de agua destilada fría, y filtrando la solución por papel de filtro mojado.

Estas diversas *soluciones madres* sirven para preparar la *solución diluida segunda*, tomando en un vidrio de reloj dos gotas de las mismas y diluyéndolas por el agregado de quince gotas de agua destilada fría.

Los cortes, después de tratados por el hipoclorito sódico (Agua de Javelle) y lavados en abundante agua destilada, para evitar la decoloración provocada por el hipoclorito residual, se sumergen en la *dilución segunda*, de donde después de tres minutos pueden ser retirados, lavados en agua destilada, y montados en la misma agua para las observaciones inmediatas.

Resultados: Para evitar inútiles repeticiones dispongo los resultados en cuadro sinóptico, apuntando los negativos por 0, y las observaciones que haya motivado cada uno en la última columna:

Colorante	LEÑO Membranas lignificadas.	LIBER Membranas celulósicas	Cambium	CUTÍCULA Estrias cuticulares	Fibras pericelúlicas	OBSERVACIONES
Pironina	Rojo carmín	Rosado pálido	Rosado pálido	Rojizo-rosado	Rojo carmín claro	
Eritrosina	0	0	0	0	0	
Metil violeta B.	Púrpura violeta intenso	Violeta típico	Violeta pálido	Azulado violáceo	Azul violeta	
Verde brillante	Verde azulado	Celeste típico	Celeste pálido	Verde azulado	Verde azulado	Más lento que verde malaquita, pero color nítida.
Verde malaquita	Verde azulado	Incoloro a celeste muy pálido	Incoloro a celeste muy pálido	Azulado verdoso	Verde azulado	Más rápido que V. brillante; colores menos intensos que aquel.
Rojo Congo	Rubí claro	Rosado pálido	Rosado pálido	Incoloro	Rubí claro	Mal colorante en sol. acuosa, lento e inseguro.
Violeta de metileno	Violeta típico	Heliotropo	Incoloro e heliotropo pálido	Violeta típico	Violeta claro	Inferior al azul de metileno.
Rosazurina G	Casi incoloro	Rosado pálido	-0-	-0-	Rosado pálido	Acción muy débil comparable a la del <i>Rojo Congo</i> .
Delta purpurina	Rosado rubí	Rosado pálido	Rosado	-0-	Rosado algo rubí	
Azul de algodón	Celeste pálido	Celeste pálido	-0-	-0-	Celeste muy pálido	Mediocre colorante para esta aplicación.
Crisoidina	Rojo anaranjado	Anaranjado claro	Anaranjado amarillento	Anaranjado rojizo	Anaranjado rojizo	Acción comparable a la safranina.
Purpurina	-0- Vasos primarios rijeramente rosado amarillento	-0-	-0-	Rosado anaranjado claro. Específico pues toma exclusivamente en la cutícula y estratos cuticulares	-0-	Su acción exclusiva sobre la cutícula le hace precioso recurso para determinar la naturaleza química de la membrana incrustada con cutina.

Como podrá comprobarse observando el cuadro sinóptico, ciertos colorantes tiñen todos los tejidos con tonalidades diferentes, por ejemplo, el *metilvioleta B*, *verde brillante*, *verde malaquita*, etc.; otros como la *Rosazurina G*, el *azul de algodón*, toman en ciertos tejidos dejando a otros incoloros (*Cambium cutícula*).

Por último la *eritrosina* no toma en ninguno de los tejidos y la *purpurina* limita su acción a teñir precisamente la *cutina* que incrusta la cutícula y estratos cuticulares, constituyéndose por tal circunstancia en reactivo específico de la misma.

Se deduce de todo ello que el empleo apropiado y oportuno de estos diversos colorantes en las proporciones indicadas y con la técnica establecida, permite el estudio detallado, nítido y rápido de los cortes, por cuya razón vuelvo a insistir en las ventajas de su aplicación, siempre que se trate de coloraciones de estudio fugaces, para observaciones directas numerosas o confección de preparados para ser proyectados o microfotografiados.

Buenos Aires, Junio 7 de 1925.

