

tüsü Direktörü Ord. Prof. Dr. L. BRAUNER'in fizyoloji seminer müzakereleri notları esas tutulmuştur.

MİKROSKOPİK TEKNİK VE BASİT PREPARATLARIN HAZIRLANMASI

I. ZOOLOGİ

Dr. MELEKPER ÖKTAY

İstanbul Üniversitesi
Zoooloji Enst. asistanı

1. H Ü C R E

1 — Bir lamelin bir kenarını hafifçe dilinize sürttükten sonra temiz bir lam üzerine kapatınız. Mikroskobun diyaframı iyice kapalı olduğu takdirde, çok köşeli dil epitel hücreleri ve her birinin yuvarlak nüveleri kolayca görülebilir.

2 — A m i p : Hazırlanmış bir *Protozoa* kültüründen bir damlayı mikroskopta inceleyiniz. Diğer tek ve çok hücreli ve fazla hareketli canlıların (*Ciliat*'lar, *Flagellat*'lar, *Rotator*'lar) arasında ilk bakışta hareketsiz gibi duran amibi bulunuz. Nüvesini kolayca protoplasmasından ayırmak mümkündür. Biraz beklediğiniz takdirde psevdopod'larının yavaş hareketlerini görebilirsiniz.

2 — K u r b a ğ a s p e r m a t o z o i d i : Bir erkek kurbacağının sarı renkli testislerinden birini bir pens ile tutarak bir damla fizyolojik su (1000 cm. saf su + 7-8 gr. mutfak tuzu) ihtiva eden bir lam üzerine hafifçe sürünüz. Su damlasının üstüne lamel kapatınız. Çomak şeklindeki spermatozoonların binlercesini bir arada görmek mümkündür.

4 — Kurbğa midesinin 12 parmak barsağa yakın kısmı içini döşeyen epiteli bir çakının ucu ile kazıyınız. Çıkardığınız parçayı bir damla fizyolojik suya koyunuz. Lamel kapattıktan sonra hücreleri dağıtmak için hafifçe basınız. Mekik şeklindeki epitel hücreleri ve onların oldukça büyük nüveleri çok güzel görünür.

Şimdiye kadar sayılan bütün hücre şekillerini tarif ettiğimiz gibi canlı olarak incelemek mümkün ise de, hücrenin protoplasmasını ve nüvesini kesin bir tarzda farketmek için objenin üzerine bir damla karmin asit asetik boyası ilâve ederek boyayınız.

Karmin asit asetik boyasının hazırlanması: Buz sirkesi namı ile sa-

ılan yoğun sirke asidinden 45 cm³ ü 55 cm³ saf su ile karıştırdıktan sonra içine 4 - 5 gr. karmen boyası koyunuz. Ağzı 1 - 1,5 metre uzunluğundaki bir ince boru ihtiva eden lâstik bir tıpa ile kapalı bir kaptaki çok yavaş ateşte 1 - 2 saat hafifçe kaynatınız. Soğuduktan sonra filtre kâğıdı ile süzünüz.

5 — Dev kromozomları: *Dipter*'lerin, nüvelerinde dev kromozomları taşıyan doku hücreleri ve diğer bazı istisnalar hariç bölünmemekte olan hücrelerin nüvelerinde yani interfaz nukleuslarında kromozom görünmez. Dev kromozomlarını görmek için en müsait obje *Chironomus* ismindeki *Dipter* larvasının tükürük bezidir. Her pis ve çamurlu su birikintisinde kolayca bulabileceğiniz 1 - 2,5 cm. uzunluğunda ve kırmızı renkli olan bu larvanın başını bir pens ile gövdesinden ayırırsınız. Başın iki yanına bağlı olarak tüp gibi tükürük bezleri ayrılacaktır. Bunları bir iğne ile bir lam üzerine alınız. Bir damla karmin asit asetik ilâve ediniz. Birkaç dakika bekledikten sonra üzerine lamel kapatınız. Lamelin üstüne hafifçe basınız. Nüveler parçalanmış ve dev kromozomları serbest kalmış olacaktır.

2. DOKULAR

1 — Kirpikli epitel dokusu: Canlı bir midyenin solungaçlarından bir parçayı fizyolojik suda incelediğiniz zaman, solungaçların etrafını saran kirpikli epitel hücrelerinin kirpik hareketini görebilirsiniz. Kurbağa yutağının içini döşeyen kirpikli epitel hücrelerini teker teker görmek için bir çakının ucu ile yutağın içini hafifçe kazıyorsunuz ve aldığınız parçayı fizyolojik su içine koyarak inceleyiniz.

2 — Kas dokusu: Bir karasineğin vücut kaslarından bir parçayı karmin asit asetik ile boyayarak çizgili kas ve kurbağa mesanesinin bir parçasını yine aynı boya ile boyayarak düz kası inceleyiniz.

3 — Kıkırdak Dokusu: Kurbağanın kol veya bacak kemiklerinin eklem yerlerindeki kıkırdaktan keskin bir jilet ile ince bir kesit alınız ve karmin asit asetik ile boyayarak inceleyiniz.

4 — Kemik Dokusu: Sığır veya koyunun uzun kemiklerinden bir parçayı boyuna küçük parçalara ayırınız. % 5 - 7,5 luk nitrik asit içerisinde 24 saat bırakınız. Jilette kesilebilecek hale gelmişse % 5 lik sodyum sülfat içerisine alınız. (Henüz kesilmiyorsa, 24 saat daha nitrik asitte kalsın). 24 saat sonra parçaları akar suya bırakınız. Akar su olmadığı takdirde, suyu sık sık değiştirmek lâzımdır. Akar suda 24

saat kaldıktan sonra, bu şekilde kalsiumu tamamen eritilmiş olan kemikten enine kesitler alınır ve su içerisinde inceleyiniz.

5 — Yağ Dokusu : Bir karasineğin karnı bölgesini bir damla fizyolojik su içerisinde açınız. Vücut boşluğuna dağılmış olan yağ cisminden bir parçayı küçük bir saat camı veya ona benzer küçük bir kap içine koyarak üzerine Sudan III boyası ilâve ediniz. 5 - 6 dakika bekledikten sonra, boyayı dökünüz. % 50 alkol ilâve edip bir iki dakika bekleyiniz, alkolü döküp saf su ilâve ediniz. İnce bir iğne ile parçayı alıp bir lam üstüne koyunuz ve bir damla gliserin ilâve ettikten sonra lamelle kapatınız. Dokunun içindeki yağ damlaları koyu turuncu renge boyanacak ve bütün diğer kısımlar renksiz kalacaktır. Preparatınızı bir müddet muhafaza etmek istiyorsanız, lamelin çeperini Kanada balsamı ile kapayınız.

Sudan III boyasının hazırlanması: 0,3 gr. Sudan III boyasına 100 cm³ sıcak % 70 alkol ilâve ediniz. Biraz çalkaladıktan sonra 55 - 60° lik bir etüvde 2 - 3 saat bırakınız ve bir filtre kâğıdı ile süzünüz.

6 — Kan Dokusu : Bir damla kanınızı çok temiz bir lam üstüne koyunuz. İkinci temiz bir lamın kenarına kan damlasına temas ettirdikten sonra lamı damlayı birinci lam üzerine yayacak şekilde hareket ettiriniz. Kanın kurumasına meydan vermeden preparata bir iki damla metil alkol ilâve ediniz. 3 dakika bekleyiniz ve preparatı kurutup lamayı sulandırılmış Giemsa mahlülünden bütün lamı kaplayacak surette ilâve ediniz. 20 - 25 dakika bekleyiniz, lamı kenarından saf su akıtmak suretiyle yıkayınız ve mikroskopta inceleyiniz.

Giemsa mahlülü yapmak için 2 cm³ Giemsa boyasını 100 cm³ su ile karıştırınız.

3. TOTAL PREPARATLAR

1 — Distomum : Hastalıklı bir koyunun karaciğerinden toplanan distomumları Bouin fiksatif ile tesbit ediniz. Bu fiksatif hazırlayamadığınız takdirde materyeli % 60 - 70 alkol veya alkol-formol karışımı ile tesbit edebilirsiniz. Bunun için en iyisi materyeli azıcık su içine koyup alkoli tedricen ilâve etmektir. Böylece ani büzölmelerin önüne geçmiş olursunuz. Tesbit edilen materyeli 24 saat sonra % 70 alkolde çalkalayarak yıkayınız. Bu ameliyeti birkaç kere tekrarlayınız. İcabederse materyaliniz uzun müddet % 70 lik alkolde kalabilir. Bundan sonra hayvanları boraks-karmin boyası içerisinde getirip 24 saat bırakınız. Boya-

dan tekrar % 70 alkole almız. Eđer çok boyanmışsa asit-alkolde (100 cm³ % 70 alkol + 0,05 cm³ kloridrik asit) istenilen renk elde edilinceye kadar tutunuz. Buradan % 80 alkole, alkolden kreozota ve oradan da Kanada balsama gecrip lamelle kapatınız.

şayet kreozod bulamazsanız % 70, % 80, % 96 alkollerde beşer dakika bırakarak % 100 alkolde, oradan da ksilol veya benzolden gecrierek Kanada balsamına almız.

Boraks-karminin hazırlanması: 2 - 3 gr. karmin boyasını 4 gr. boraksla iyice karştırarak dövünüz. 100 cm³ suda ısıtarak eritiniz. Soğuduktan sonra 100 cm³ % 70 alkol iláve ediniz. şalkahyarak bir iki hafta beklettikten sonra süzünüz.

Bouin fiksatifinin hazırlanması: 15 cm³ doymuş pikrik aside 5 cm³ formol ve 1 cm³ buz sirkesi karştırınız. Formol ve buz sirkesi fiksatif kullanılacağı sırada iláve edilmelidir.

2 — H a m a m b ö c e ğ i a ğ ı z â l e t i: Bir hamam böceğinin ağız âletinin her parçasını ince bir pensle kopararak kreozod içine atınız ve bir iki saat bekleyiniz. Bundan sonra her bir parçayı bir lam üzerine muntazam dizerek Kanada balsamı iláve ediniz ve bir lamelle kapatınız.

Karmin asit asetik ile boyanmış preparatları daimi preparat haline sokmak için objeyi boyadıktan sonra, lamelin bir kenarını % 96 alkol + Buz sirkesi karşımını iláve edip mukabil kenarına bir filtre kâğıdını tutarak boyayı eminiz. Bir iki dakika bekledikten sonra, aynı ameliyeyi saf % 96 alkol iláve ederek birkaç defa tekrarlayınız. Alkol yerine bir damla kreozod koyunuz. Mukabil kenarından alkolü eminiz. İki defa kreozotu değiştirdikten sonra lamelin bütün çeperine Kanada balsamı sürünüz. Bu ameliyeyi yaparken lamelin hiç kıılmamasına dikkat etmelidir. Böyle hazırlanmış preparatlar hiç bozulmadan birkaç sene muhafaza edilebilir.

MİKROFOTOGRAFİDE MUVAFFAK OLMAK İÇİN

KEMAL DEMİRİZ

Yüksek Ziraat Mühendisi

Ernst Leitz-Wetzlar İlmî Bürosu

Mikrofotografide muvaffak olmak için her şeyden önce mikroskop ve fotoğraf materyalinden iyi faydalanmamız gereklidir.