

ELEKTRON MIKROSKOPLA ÇALIŞMA İÇİN BAZI HAZIRLAMA METODLARI

Doç. Dr. SEVİNÇ KAROL
Ankara Üniv. Zooloji Enstitüsü

1954 de CHALLICE'in ve 1956 da GLAUERT ve arkadaşlarının iki çalışmasında izah edilen yeni hazırlama metodlarına göre materyelin tespiti için tamponlanmış ozmik asit eriyiği kullanılır. Bu eriyik aşağıdaki terkipte olup PALADE (1951) tarafından tertip edilmiştir:

Materyel 8 saatten az olmamak üzere tamponlanmış ozmik asit eriyiğinde bırakılır ve saf su ile yıkandıktan sonra % 70 alkole nakl-

Ozmik asit tesbit eriyiği :

% 2 OsO ₄ (ticarî hazırlanmış)	12.5 ml.
Tampon eriyiği	5 ml.
0.1/N HCl	5 ml.
Saf su	2.5 ml.

Tampon eriyiği :

Sodyum asetat kristalize	1.943 gr.
Sodyum barbitürat	2.943 gr.
Saf su (CO ₂ 'siz)	100.000 ml.

edilip % 90 ve mutlak alkolden geçirilerek suyu alınır. Her alkol banyosunun en az bir saat olması lâzımdır. Materyeli mümkün olduğu kadar küçük parçalara ayırmak ve hattâ nümunenin sadece tetkik edilecek olan parçasını kesip kullanmak icap eder.

Bundan sonraki materyelin yatırılması safhasında CHALLICE'in metoduna göre monte ortamı olarak bütil veya metil metakrileyt

monomer veya bunların karışımı kullanılır. Karışımın metil monomer miktarı arttırıldıkça daha sert bir ortam teşekkül edeceği için çalışılan materyelin sertlik durumuna göre 1/4, 2/4, 3/4 şeklinde ayarlanabilir. Her iki metakrileyinde ticarî şekillerine polimerizasyona manî olmak üzere bir madde ilâve edilmiştir ki bunun, lâboratuvarda kullanılmadan evvel, çıkarılması icap eder. Bu maksatla eşit hacimlerdeki metakrileyt monomer ve az doymuş NaOH bir ayırma hunisine konup iyice çalkalanır. Ekseriya hidrokinon olan bu yabancı madde hidroksite geçerek kirli esmer bir renk hasıl eder. Huninin alt musluğu açılarak kirli hidroksit aktılır ve musluk kapatılıp tekrar temiz NaOH ilâve edilir. Bu muameleye NaOH temiz kalana kadar 3-4 defa aynen devam edilir. Metakrileyt monomer yabancı maddelerden temizlenmiş, fakat bu defa hidroksitten bir miktar su metakrileyt monomer içine geçmiştir. Bu, önce berrak olan metakrileyt monomerin buzlu renginden anlaşılır. Fazla suyu almak üzere ayırma hunisine bir miktar CaCl_2 ilâve edilir ve çalkalanır. Metakrileyt monomer tekrar berraklaşır.

Materyelin dehidratasyonunun sonuna doğru metakrileyt monomer hazırlanır ve materyel mutlak alkolden doğruca mutlak alkol/metakrileyt monomer karışımına nakledilir ve aşağıdaki safhalar sıra ile takip edilir:

1. Mutlak alkol/metakrileyt monomer (1/1): 1 saat
2. Metakrileyt monomer: 1 saat
3. Metakrileyt monomer + hızlandırıcı: 1 saat
4. Metakrileyt monomer + hızlandırıcı: Yatırma.

Bütil ve metil metakrileyt monomer veya ikisinin karışımı için daima metakrileyt monomer denilmiştir. Karışım şeklinde kullanılacağı takdirde yukarda yazıldığı gibi ayarlanması lâzımdır. Metakrileyt monomere bir «hızlandırıcı» ilâve edilmezse polimerizasyon günlerce uzayacağı için benzoil peroksit (100 ml. metakrileyt monomer için 1 gr) ilâve edilir ve materyel buna nakledilir (3. safha). Sonra içinde hızlandırıcı bulunan metakrileyt monomer jelâtin kapsüllere konur (Jelâtin kapsüller eczanelerden temn edilebilir). Materyel içine yerleştirilir ve 50°C de 24-48 saat veya 60°C de 1 gece etüvde bırakılır. Monomerlerin polimerize olması ile sert şeffaf bloklar teşekkül eder.

GLAUERT ve arkadaşlarının metodlarında tespit müddeti daha uzundur (10-15 saat). Yatırma için monte ortamı olarak «araldayt» karışımı kullanılır. Terkibi şöyledir:

Araldayt karışımı :

Araldayt M reçinesi	10 ml
Sertleştirici 964 B	10 ml
Dibütil fitalayt	1 ml
Hızlandırıcı 964 C	0.4 ml

Bu dört madde sırayla karıştırılarak, Materyel tamponlanmış ozmik asitde tespit edilip alkol serilerinden geçirilerek suyu alındıktan sonra mutlak alkol/araldayt karışımı içine konur ve aşağıdaki sıra takip edilir:

1. Mutlak alkol/araldayt karışımı (1/1): 2 saat,
2. Araldayt karışımı (birinci banyo): 2 saat,
3. Araldayt karışımı (ikinci banyo): 2 saat,
4. Araldayt karışımı: Yatırma.

Materyel temiz araldayt karışımı ile beraber jelâtin kapsüllere konur ve 48°C etüvde 30 saat bırakılır. Bu esnada polimerize olan araldayt dolayısıyla şeffaf sarı sert bloklar elde edilir.

Her iki metodun kullanılmasında da hiçbir güçlük yoktur ve bloklar uzun zaman muhafaza edilebilir.

Kesiler alınacağı zaman jelâtinin bertaraf edilmesi için bloklar ılık suya konur. Mikrotoma yerleştirilmeden evvel blokların binoküler altında traş edilmesi ve materyelin etrafında mümkün mertebe az monte artamı bırakılması lâzımdır. Kesiler 4-5 mm. kalınlıkta camdan yapılmış main şeklindeki bıçaklarla alınır ve fırça ile grid üzerine nakledilip elektron mikroskopta tetkik edilir.

Referans

1. CHALLICE, I.C.E. (1954): The electron microscope with particular reference to its use in biological research. Part II. Histological techniques. *Lab. Practice*, 3 (7) 279—284.
2. GLAUERT, A.M. ve E.M. ERIEGER (1956): First European Cong. on Electron Microscopy. Stockholm.
3. GLAUERT, A.M., G.E. ROGERS ve R.H. GLAUERT (1956): A new embedding medium for Elektron Microscopy. *Nature*, 178, 803.
4. PALADE, G.E. (1951): A study of fixation for Electron Microscopy. *J. Exp. Med.* 95, 285.

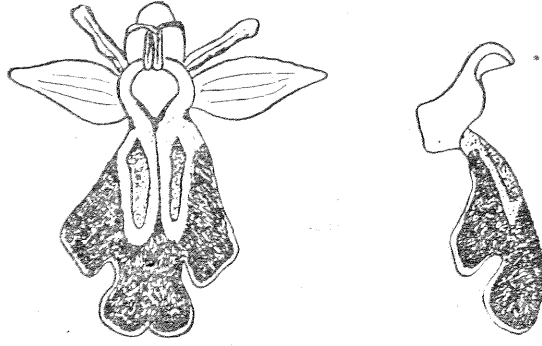
HALKALI - FLORYA GEZİSİ

Doç. Dr. ASUMAN BAYTOP
İst. Üniv. Eczacı Okulu

Türk Biyoloji Derneği'nin 24 Nisan 1960 günü Halkalı - Soğuksu-Florya havalisinde yaptığı gezi, botanik cephesiyle, bilhassa *Orchidaceae* familyası bakımından önemli idi. Filhakika bu muntikanın kireçli tepelerinde bu mevsimde iki *Orchis* (*O. papilionacea* L. ve *O. saccata* Ten.) ve beş *Ophrys* türüne çiçekli vaziyette tesadüf ettik. Bu yazımızda, bulduğumuz *Ophrys* leri kısaca gözden geçiriyoruz.

O. fusca Link-Halkalı tren istasyonundaki sırta.

Dış perigon parçaları yeşil, 10-11 mm. İç iki perigon parçası yeşil, 10 mm. Labellum 3 loblu, 12-15 mm, kadife tüylü, kahverengi, kenarında sarı-yeşil renkli çok dar bir şerit mevcut. Leke 2, çıplak, oblong. yeşilimsi sarı, Ginostemium gagasız (Şek. 1).



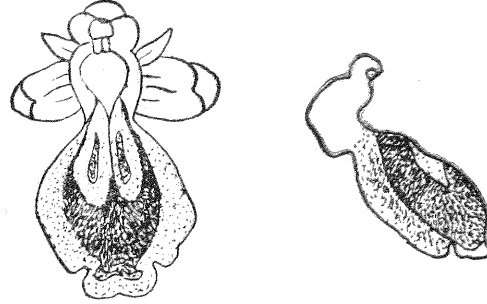
Şek. 1: *Ophrys fusca*, 2 ×.

O. nutea Cavan. var. *minor* Parl. - Halkalı tren istasyonundaki sırta.

(*) Türk Biyoloji Derneğinin tertip ettiği İstanbul civarı gezileri hakkında müellifin diğer neşriyatı : *Biyoloji*, 5, 158 (1955) (Belgrat ormanı, Terkos gölü) ve *T. Biyoloji Dergisi*, 8, 90 (1958) (Soğuksu-Yeşilköy).

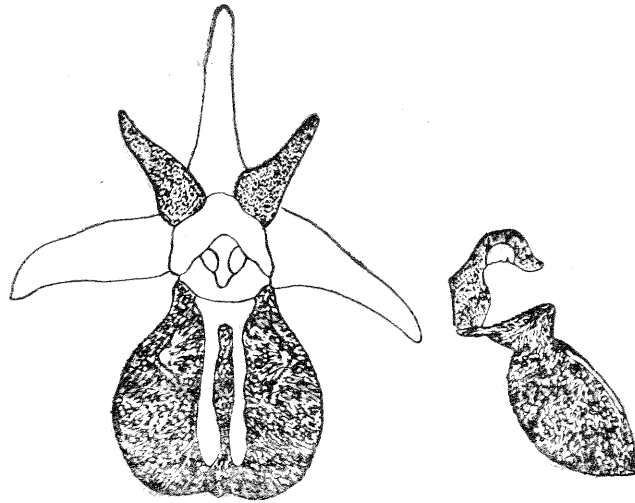
Dış perigon parçaları yeşil, konnivent, 8-9 mm. İç iki perigon parçası yeşil, 4 mm. Labellum 3 loblu, 8-10 mm. kadife tüylü, ortası kahverengi, kenarları sarı veya yeşilimsi sarı, koyu renkli nahiyede, çıplak, gri-mavi, oblong iki leke. Ginostemium gagasız (Şek. 2).

O. mammosa Desf. (*O. atrata* Lindl) - Halkalı tren istasyonundaki sırtta.



Şek. 2: *Ophrys lutea* var. *minor*, 3 ×.

Dış perigon parçaları pembe-yeşil, 12-13 mm. iç iki perigon parçası koyu pembe-yeşil renkte, üst yüzü sık ve kısa papilli, 7 mm. Labellum 12 mm. kadife tüylü, kıvrımlı koyu kahverengi, tabana yakın yerde iki konik çıkıntılı, çıkıntılar üzerinde ve taban

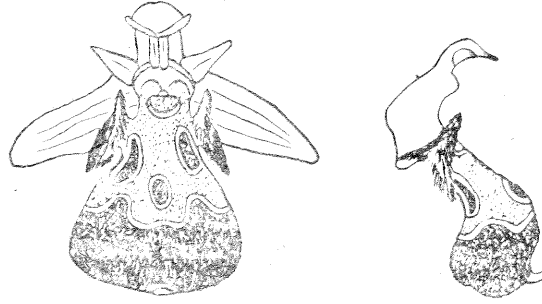


Şek. 3: *Ophrys mammosa*, 2 ×.

tarafında uzun tüylü, uçta küçük mukronlu. Leke 2 çıplak, mavimsi ve ekseriya tabanda birleşen iki paralel hat halinde. Ginostemium iç perigon parçaları gibi koyu renkli, sık papilli ve kısa gagalı. (Şek. 3).

O. Heldreichii Schlecht (*O. oestriifera* M. B.) - Halkalı tren istasyonundaki sırta.

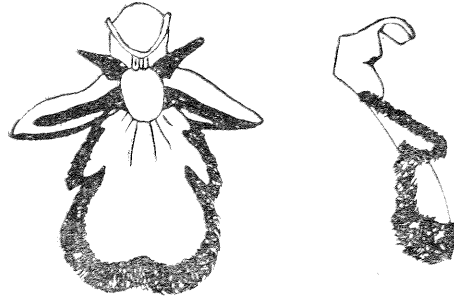
Dış perigon parçaları yeşil, 10 mm. İç iki perigon parçası yeşil, 4-5 mm. Labellum 3 loblu, 10 mm. kısa kadife tüylü, orta lobun tepesinde çıplak, yarı-oblong, kalkık bir apendiks mevcut, taban tarafındaki lekeler ve üst yarısı daha koyu kahverenginde, her iki yarını ayıran dalgalı yol ve koyu lekelerin etrafı yeşilimsi sarı. Yan loblar konik 2 boynuz şeklinde, 5 mm, tepede yeşilimsi, tabanda kahverengi ve uzun tüylü. Ginostemium sivri gagalı (Şek. 4).



Şek. 4: *Ophrys Heldreichii*, 2 ×.

O. speculum Link - Küçükçekmece sirtlarında.

Dış perigon parçaları yeşil, kızılıntrak esmer lekli. İç iki perigon parçası kızılıntrak kahverengi, kadife tüylü, 5 mm. Labellum 3 loblu, 10-12 mm. orta kısmı koyu mavi ve parlak, etrafı çok dar yeşilimsi sarı hareli ve bunun dışında geniş koyu kahverenginde ve uzun tüylü kenarlı. Ginostemium gagasız (Şek. 5).



Şek. 5: *Ophrys speculum*, 2 ×.