

**T.C.
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI**

ORTA ÖĞRETİM PROJESİ

LABORATUVAR HİZMETLERİ

**MİKROSKOBİK İNCELEME
524LT0021**

Ankara, 2011

- Bu modül, mesleki ve teknik eğitim okul/kurumlarında uygulanan Çerçeve Öğretim Programlarında yer alan yeterlikleri kazandırmaya yönelik olarak öğrencilere rehberlik etmek amacıyla hazırlanmış bireysel öğrenme materyalidir.
- Millî Eğitim Bakanlığınca ücretsiz olarak verilmiştir.
- **PARA İLE SATILMAZ.**

İÇİNDEKİLER

AÇIKLAMALAR	ii
GİRİŞ	1
1. PREPARAT İNCELEMESİ.....	3
1.1. Mikroskop	3
1.1.1. Mikroskop Çeşitleri	3
1.1.2. Mikroskopun Kısımları ve İşlevleri.....	5
1.1.3. Mikroskopun Büyütme Gücü	7
1.1.4. Mikroskop Kullanımında Dikkat Edilecek Noktalar	7
1.1.5. Mikroskopun Temizliği ve Bakımı.....	7
1.2. Kuru Objektifle İnceleme.....	9
1.3. İmmersion Objektifiyle İnceleme	9
UYGULAMA FAALİYETİ	11
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	15
ÖĞRENME FAALİYETİ-2	17
2. MİKROSKOPLA ÖLÇÜM.....	17
2.1. Oküler ve Objektif Mikrometre	17
2.2. Mikroskopla Ölçüm Aşamaları.....	18
2.3. Hesaplama.....	19
UYGULAMA FAALİYETİ	21
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	24
ÖĞRENME FAALİYETİ-3	25
3. MİKROORGANİZMALARDA HAREKET.....	25
3.1. Mikroorganizmalarda Hareket ve Hareket Organeli.....	25
3.2. Mikroorganizmalarda Hareket Muayene Yöntemleri	25
3.2.1. Asılı Damla Yöntemi.....	26
3.2.2. Lam Lamel Arası Muayene	26
3.2.3. Yarı Katı Besiyeri Yöntemi	27
UYGULAMA FAALİYETİ	28
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	30
MODÜL DEĞERLENDİRME	31
CEVAP ANAHTARLARI.....	33
KAYNAKLAR.....	34

AÇIKLAMALAR

KOD	524LT0021
ALAN	Laboratuvar Hizmetleri
DAL/MESLEK	Alan Ortak
MODÜLÜN ADI	Mikroskopik İnceleme
MODÜLÜN TANIMI	Mikroskopta preparat inceleme, ölçüm ve mikroorganizmalarda hareket muayenesi ile ilgili bilgi ve becerileri kazandıran bir öğrenme materyalidir.
SÜRE	40/32
ÖN KOŞUL	Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon-1 modülünü başarmış olmak.
YETERLİK	Mikroskopta inceleme yapmak
MODÜLÜN AMACI	Genel Amaç Gerekli ortam sağlandığında tekniğine uygun olarak mikroskopta preparat incelemesi, ölçüm ve mikroorganizmalarda hareket muayenesi yapabileceksiniz. Amaçlar 1. Mikroskopta preparat incelemesi yapabileceksiniz. 2. Mikroskopta ölçüm yapabileceksiniz. 3. Mikroorganizmalarda hareket muayenesi yapabileceksiniz.
EĞİTİM ÖĞRETİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI	Ortam Mikrobiyoloji laboratuvar ortamı, kütüphane, internet, bireysel öğrenme ortamları vb. Donanım Mikroskop, lam, lamel, çukur lam, oküler mikrometre, objektif mikrometre, hazır preparat, kültür, sedir yağı, FTS, hesap makinesi
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	Modülün içinde yer alan her faaliyetten sonra size verilen ölçme araçları ile kazandığınız bilgileri ölçerek kendi kendinizi değerlendireceksiniz. Öğretmen modül sonunda ölçme aracı (test, çoktan seçmeli, doğru-yanlış vb.) kullanarak modül uygulamaları ile kazandığınız bilgi ve becerileri ölçerek sizi değerlendirecektir.

GİRİŞ

Sevgili Öğrenci,

Mikroskop, gözle görülemeyecek kadar küçük canlı veya cansız maddeleri incelememizi sağlayan optik bir araçtır. Mikroskop, küçük objeleri görmede gözün görme sınırlarını genişletici bir rol oynar.

Mikroskop mikrobiyoloji laboratuvarlarında en sık kullanılan ve bakımının titizlikle yapılması zorunlu olan bir laboratuvar aracıdır. Mikroskoptan iyi bir görüntü elde edilmesi büyük oranda mikroskopun bakımı, temizliği ve ayarlanması ile ilgilidir. Bu nedenle mikroskopun temizlik ve bakımına önem vermek gerekir.

Bu modül, laboratuvarlarda en sık kullanılan aydınlık alan (ışık) mikroskobu ile preparatların incelenmesi, mikroskopta ölçüm ve mikroorganizmalarda hareket muayenesi ile ilgili bilgi ve becerileri kazanmanızda sizlere yardımcı olacaktır.

ÖĞRENME FAALİYETİ-1

AMAÇ

Gerekli ortam sağlandığında tekniğine uygun olarak mikroskopta preparat incelemesi yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Mikroskop kullanım yerlerini araştırınız.
- Mikroskop çeşitlerini araştırınız.

1. PREPARAT İNCELEMESİ

1.1. Mikroskop

Mikroskop, çıplak gözle görülemeyecek kadar küçük canlı veya cansız maddeleri incelememizi sağlayan optik bir araçtır. Küçük objeleri görmeye gözün görme sınırlarını genişletici bir rol oynar.

Mikroorganizmalar, gözle görülemeyecek kadar küçük olduklarından ancak mikroskop altında görülebilir ve ölçülebilirler. Mikroorganizmaların (bakteri, virüs, mantar, protozoa vs.) büyüklüklerini belirlemede uluslararası metrik sisteme ait ölçü birimlerinden yararlanır. Ökaryotik organizmalar ve bakteriler mikrometre, virüsler nanometre, atom ve moleküller de angstrom olarak ölçülmektedir.

1 mm = 1000 μ m (mikrometre)

1 μ m = 1000 nm (nanometre)

1 nm = 1000 Å (angstrom)

İnsan gözü 200–250 μ m'den daha büyük olan nesnelere görebilir. Bu limitlerin altındakileri göremez. Bu nedenle, mikroorganizmaları görmeye ve bunlar hakkında bilgi edinmeye mikroskop kullanma zorunluluğu vardır.

1.1.1. Mikroskop Çeşitleri

Günümüzde çeşitli amaçlar için kullanılan mikroskoplar başlıca 5 gruba ayrılırlar.

➤ Işık Mikroskobu

En yaygın kullanılan ve en basit yapıya sahip olan mikroskop çeşididir. Genellikle bakteriyoloji, mikoloji, patoloji, histoloji, hematoloji, parazitoloji, biyokimya ve

mikrobiyoloji laboratuvarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Işık mikroskobu çeşitlerinden olan stereo mikroskoplar özellikle gözle görülebilen cisimlerin daha ayrıntılı ve üç boyutlu görüntülerinin incelenmeleri amacıyla kullanılır. Bitkilerin çiçek, yaprak ve diğer yapıları, böceklerin vücut ve organelleri ile cansız materyallerin (toprak, yem, maden vb.) incelenmesinde çok kullanılır.

➤ **Karanlık Alan (Saha) Mikroskobu**

Bazı ince yapılı mikroorganizmaları (spiroketler gibi) ışık mikroskopunda görmek mümkün olmaz ve bu amaçla karanlık alan mikroskopundan yararlanır. Karanlık alan mikroskopunun ışık mikroskopundan tek farkı, kondansatör farklılığıdır. Bu mikroskopta mikroorganizmalar, karanlık zemin üzerinde parlak görüntü verir. Özel kondansatör yardımıyla sağlanan karanlık sahada alttan gelen ışık, kondansatörün ortasındaki siyah, ışık geçirmeyen bir bölge nedeniyle yanlarından girerek preparat üzerine gelir. Karanlık alanda bulunan mikroorganizmanın yansıttığı ışık sayesinde görüntü elde edilir.

➤ **Faz Kontrast Mikroskobu**

Faz kontrast mikroskobu ışığın farklı kırılma özelliği ile sıvı bir ortam içerisinde boyasız olarak incelenen mikroorganizmaların hücre içi yapılarının görülmesini sağlar. Bu amaçla kullanılan mikroskopların, ışık mikroskopundan iki önemli farkı vardır. Bunlar, özel kondansatör ve optik sistem (özel faz objektifleri) kullanılmasıdır. Bu sayede mikroorganizmanın bulunduğu çözeltilerden geçerek gelen ışınların koyuluklarına göre preparatta aydınlık karanlıklı alanlar oluşur. Bakterinin olduğu yerde ışık tutulur ve koyu görülür, DNA daha koyu bir görünüm verir. Kullanılan ışığın dalga boyu az olup 0,2 mikrometrenin altındadır.

➤ **Floresan Mikroskobu**

Bazı maddeler kısa dalga boyundaki ışığı absorbe ederek uzun dalga boyunda ışık olarak yansıtırlar. Floresan mikroskoplarda bu özellikten yararlanılarak görüntü elde edilir. Işık kaynağı olarak ultraviyole ışınlar kullanılır. Cisimlerin kendilerine gelen ışınları bu ışınlardakinden farklı dalga boylarında yansıtımları olayına floresans denir. Görüntü elde edebilmek için bu ışınlarla karşılaştığında floresans veren boyalar kullanılır. En yaygın kullanılan floresans boyalar rodamin (pembe), auramin, flurescein (yeşil), etidyum-bromür (DNA boyayıcı - altın sarısı), trioflavin, kinin sülfatdır. Zemin kullanılan boya rengindedir.

➤ **Elektron Mikroskobu**

En önemli özelliği ışık kaynağı olarak elektronların kullanılmasıdır. Elektron mikroskobu ile incelenen yapılar 20.000 ila 1.000.000 kez büyütülebilir. Virüsler ve viral parçacıklar bu mikroskop ile görülebilir. Elektron mikroskobu ile ışık mikroskobu arasında iki önemli fark bulunur. Elektron mikroskopunda ışık kaynağı yerine dalga boyu çok kısa olan elektronlar ve cam mercekler yerine elektromanyetik kondansatörler kullanılır. Elektronlar objeden geçerken geçirgenlik derecesine göre az ya da çok absorbe olur. Görüntü floresan bir ekran üzerinde oluşur ve dışarıdan bir cam ekran aracılığıyla görülebilir.

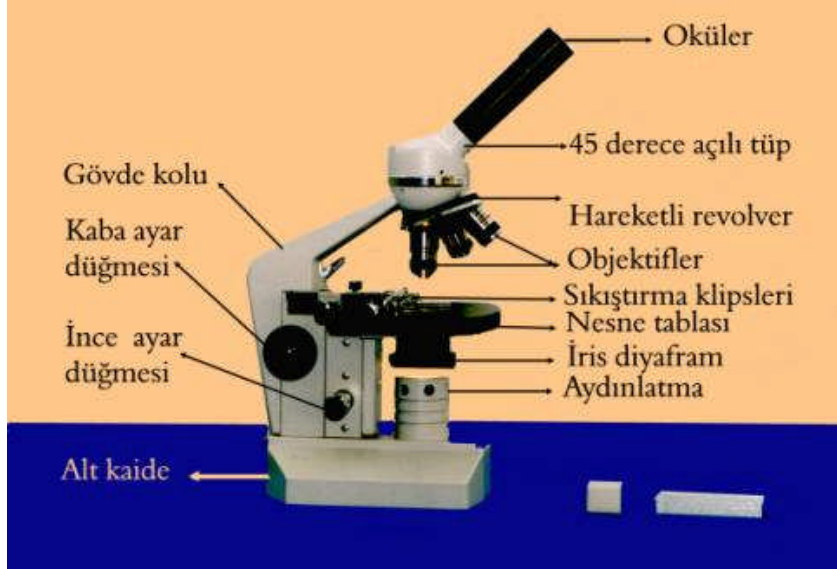
1.1.2. Mikroskopun Kısımları ve İşlevleri

Işık mikroskopları mekanik, optik ve aydınlatma kısımlarından oluşur.

➤ Mekanik Kısım

Mikroskopta mekanik kısmı, oküler ve objektifleri taşıyan tüp, mikroskobu tutmaya yarayan kol, preparatı koymak için tabla ve mikroskopun zemine oturmasını sağlayan ayak (taban) oluşturur. Bu kısımlar mikroskop türlerine göre az veya çok değişiklik gösterebilir.

Mikroskopları tutmaya ve kaldırmaya yarayan kol yarım ay veya düz bir şekilde olabilir. Bunun üst ucu tüpün gövdesine, alt ucu da mikroskop tablasına bağlanmıştır. Aynı zamanda kol üzerinde bulunan makro ve mikrometre düğmeleri objeyi tüpe (veya tüpü objeye) yaklaştırır veya uzaklaştırır.



Resim 1.1: Mikroskopun kısımları

Mikroskop tablası yuvarlak veya dört köşe olup üzerine preparat konur. Bazılarında tabla, yanlardaki düğmeler tarafından hareket ettirilmesine karşın bir kısmında da sabit olup objeyi hareket ettirmek için özel sürgü (şaryo) tertibatı bulunur. Bazı mikroskoplarda tabla sabittir, bir kısmında da aşağı yukarı inip çıkabilir.

Mikroskop at nalı, oval veya düz ağır bir ayakla (taban) sağlam olarak masa üzerine konulur. Bazı mikroskoplarda ayak içinde aydınlatma tertibatı bulunur.

➤ Optik Kısım

Mikroskopta incelenen objeleri büyütme görüntü elde edilmesini sağlayan en önemli kısımdır. Optik kısım objektif ve okülerden meydana gelir.

Objektif: Farklı büyütme kapasitelerine sahip olan objektifler birçok mercekten meydana gelmiştir. Mikroskoplarda objektifler 4 veya 5 adet olabilir. Optik kısmın objeye en yakın bölümünü oluşturan objektifler, mikroskop tüpünün altına yerleştirilmiş ve orta eksen etrafında dönebilen bir tablaya (revolver) vidalanmışlardır. Üzerlerinde büyütme oranlarını bildiren 4x, 10x, 40x, 100x gibi rakamlar bulunur. Mikrobiyolojide en sık 100'lük objektif kullanılır. Bu objektif, preparat ile objektif arasına immersiyon yağı (sedir yağı) damlatılarak kullanılır. Bu nedenle immersiyon objektifi olarak da adlandırılır.

Oküler: Optik kısmın gözle bakılan ve tüpün üst kısmına konulan parçasını oluşturur. Alt ve üst olmak üzere çift merceklidir, üzerlerinde 5x, 10x, 15x, 20x gibi kaç kez büyütme yaptıkları yazılıdır. Okülerlerin görevi objektif tarafından oluşturulan obje görüntüsünü büyütme ve objektifin bazı hatalarını düzeltmektir. Bazı mikroskoplarda tek bir oküler (monoküler) bulunmasına karşın, genellikle çift oküler (binoküler) bulunur. Binoküler sistemde, objektifden geçen ışınlar prizmalar yardımıyla 2 göze taksim edilirler. Binoküler sistem, başlığın sağa sola dönmesi ve eğik olması nedeniyle monoküler sisteme oranla daha rahat ve kolay bir görüş sağlar. Bazı binoküler başlıklarda, fotoğraf makinesi yerleştirmek için üçüncü bir tüp daha bulunur. Bazı mikroskoplarda aynı anda iki kişinin bakabileceği tertibatlar bulunmaktadır.

➤ Aydınlatma Kısım

Aydınlatma bölümü, lam üzerine konan objeyi aydınlatmak için ışık kaynağı, bu ışığı obje üzerine doğru yansıtan veya yönelten ayna ve ışığı obje üzerinde toplayan kondansatörden oluşur.

Işık kaynağı: Mikroskoplarda objeyi aydınlatmak için, genellikle elektrikle çalışan, mikroskopun dışında bulunan veya mikroskopun içine monte edilen ışık kaynakları kullanılmaktadır. Işık kaynağı aydınlatma için gerekli ışığı verir, ayrıca bazı modellerde ışığı ayarlamak için özel diyaframlar bulunur.

Ayna: Mikroskop üzerine monte edilmiş aynalar, ışık kaynağından gelen ışınları kondansatöre ve dolayısıyla obje üzerine yansıtırlar. Bazılarında ayna, mikroskop içinde bulunur.

Filtre: Kondansatörün altında bulunan özel ve halka şeklindeki yere ışık kaynağından gelen ışınları süzen mavi, yeşil veya mat filtreler konarak iyi görüntü sağlanmaya çalışılır.

Diyafram: Lambadan gelen ışığın, gereğine göre az veya fazla oranda kondansatöre girmesini sağlamak için kondansatörün altında diyafram bulunur. İmmersiyonla çalışmalarda genellikle diyafram tam açılarak içeri fazla ışık girmesi ve objenin aydınlatılması sağlanır. Buna karşılık, hareket muayenelerinde ise iyi bir kontrast sağlanması için diyafram gereği kadar kapatılır.

Kondansatör: Bir mikroskopta kondansatörün esas görevi ışığı obje üzerinde toplamak ve yeterince aydınlatmaktır. Genellikle iki mercekten oluşan kondansatörler, bir düğme ile aşağı yukarı inercikar ve ışığın iyi odaklanmasını sağlar.

1.1.3. Mikroskobun Büyütme Gücü

Mikroskobun büyütme gücü objektifin fokal uzunluğu, okülerin büyütme gücü ve optik tüp uzunluğuna bağlıdır. Objektifin büyütmesi aşağıda verilen formül ile hesaplanabilir:

$$\text{Objektifin büyütme gücü} = \text{Tüp uzunluğu} / \text{Objektifin fokal uzunluğu}$$

Objektifin fokal uzunluğu 16 mm ve mekanik tüp uzunluğu 160 mm ise, objektifin büyütmesi = $(160) / (16) = 10$ olur. Objektifin fokal uzunluğu 4 ise, $160 / 4 = 40$ 'tır. Objektifin fokal uzunluğu 2 ise, $160/2 = 80$ 'dir. Okülerin büyütmesi, genellikle üzerinde yazılmıştır (5x, 7x, 10x, 12x, 15x, 20x).

$$\text{Mikroskop büyütme gücü} = \text{Okülerin büyütme gücü} \times \text{Objektifin büyütme gücü}$$

Örneğin oküler 5x, objektif 40x olan bir mikroskobun büyütmesi = $5 \times 40 = 200$ olur.

1.1.4. Mikroskop Kullanımında Dikkat Edilecek Noktalar

Mikroskop kullanırken dikkat edilmesi gereken kurallar aşağıda açıklanmıştır.

- Mikroskop bir elle altından diğer elle kolundan sıkıca tutularak daima iki elle taşınmalıdır.
- Mikroskobun konulduğu masanın sağlam, sallantısız, oturulacak taburenin ya da sandalyenin mikroskoba rahat ve yorulmadan bakmayı sağlayabilecek biçimde yüksekliği ayarlanabilen nitelikte olması gerekir.
- Mikroskop masanın kenarına fazla yakın konmamalı ve masanın üzerindeki gereksiz şeyler önceden kaldırılmalıdır.
- Mikroskobun kablolarının altta kalıp ezilmemesine dikkat edilmelidir.
- Mikroskop kullanılmadığı durumlarda özel kılıfı veya kutusu içinde muhafaza edilmelidir.
- Mikroskop yumuşak dokulu, kalıntı bırakmayan, temiz bir bezle her kullanımdan sonra temizlenmelidir.
- Çalışma bitiminde mikroskop küçük objektife ayarlı şekilde bırakılmalıdır.
- Objektif ve okülerler gereksiz yere kesinlikle yerlerinden çıkarılmamalıdır.
- Mikroskopların merceğine elle dokunulmamalıdır.

1.1.5. Mikroskobun Temizliği ve Bakımı

Bir mikroskoptan iyi bir görüntü elde edilmesi büyük oranda mikroskobun bakımı, temizliği ve ayarlanması ile ilgilidir. Bu nedenle mikroskobun temizlik ve bakımına önem göstermek gerekir. Diğer bir ifade ile hem iyi görüntü elde etmek hem de mikroskobun ömrünü uzatmak için mikroskopların kullanılmadan önce ve kullanıldıktan sonra çok dikkatli bir şekilde temizlenmesi gerekir.



Resim 1.2: Mikroskopun temizliğinde kullanılan malzemeler ve okülerin temizliği

Preparat incelemelerinden sonra başta immersiyon objektifi olmak üzere mikroskopun herhangi bir yerinde immersiyon yağ bulaşığı bırakılmamalıdır. İmmersiyon yağı kalıntılarını temizlemek için çok az miktarda temizleme solüsyonu ile nemlendirilmiş yumuşak dokulu, kalıntı bırakmayan, temiz bir bez (tülbent, mercek temizleme bezi veya kâğıdı) kullanılır. Temizleme solüsyonu olarak 7 kısım eter, 3 kısım etanol karışımı kullanılır. Bu karışım yoksa ksilol kullanılabilir. Optik kısım alkol, pamuk, sert dokulu bezlerle silinmemelidir. Objektif ksilol ile fazla ıslatılmamalı ve mikroskopun zarar görmemesi açısından bu temizleme yoluna fazla başvurulmamalıdır.

Mikroskoptaki objektiflerin en büyük düşmanı toz, nem ve dikkatsiz kullanımdır. Mikroskopların mercekleri tozlu, nemli ve yüksek sıcaklıkta bırakıldığında kısa sürede bozulur ve özelliğini kaybeder. Mikroskop, asla güneşte veya sıcakta bırakılmamalıdır. Günlük çalışma bittikten ve mikroskopun temizliği tamamlandıktan sonra mikroskopun örtüsü örtülmeli veya kabına yerleştirilerek muhafaza edilmelidir.



Resim 1.3: Mikroskopların muhafazası

Mikroskoptaki lekelerin okülerde mi yoksa objektifte mi olduğunu anlamak için okülerleri kendi ekseninde döndürmek yeterlidir. Şayet leke okülerde ise, okülerin

hareketi ile beraber leke de yer değiştirir. Okülerin hareketi ile yer değiştirmeyen lekeler ise objektifte demektir.

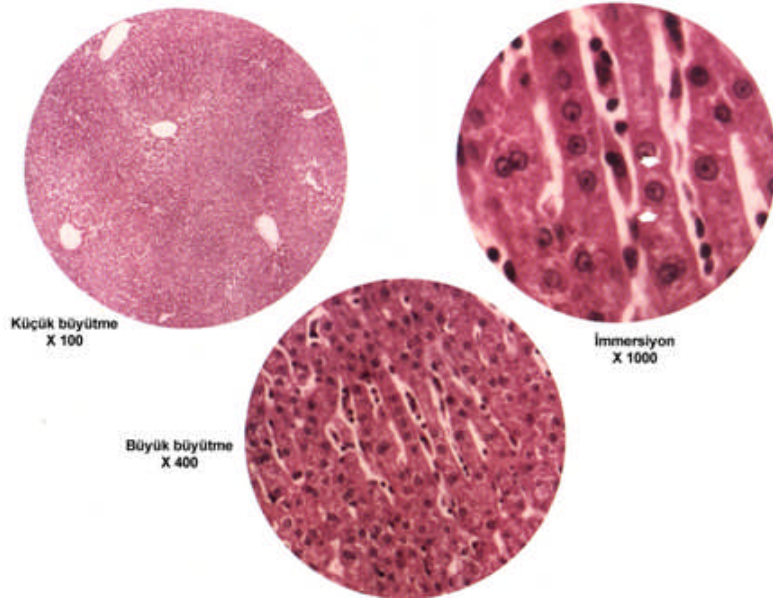
1.2. Kuru Objektifle İnceleme

Boyasız preparat incelenecekse kondansatör aşağıda, ışık kısık, boyalı preparat incelenecekse kondansatör yukarda diyafram tam açık olarak inceleme yapılır.

- Mikroskobun ışığı açılıp diyaframı kısılarak temiz olup olmadığı kontrol edilir. Temiz değilse oküler ve objektifler temizlenir.
- En küçük büyüten objektif ışık yoluna getirilir.
- Preparat tablaya yerleştirilerek (daima üst yüzü objektife bakacak şekilde) sabitlenir.
- Yandan bakılarak şaryo ayar vidaları ile preparatta incelenecek bölüm ışık yolu üzerine getirilir.
- Preparatın özelliğine göre ışık ve diyafram ayarları yapılır.
- Binoküler mikroskopta okülerin aralığı incelemeyi yapan kişinin göz aralığına göre ayarlanır.
- Okülerden bakarak görüntü görölünceye kadar makro ayar vidası çevrilir.
- Tekrar ışık ve diyafram ayarları yapılır.
- Mikro ayar vidası ile görüntü netleştirilir.
- Farklı görüş alanlarında inceleme yapmak için şaryo ayar vidaları ile görüntü alanı değiştirilerek incelenir.
- Daha fazla büyüten bir objektifle inceleme yapılacaksa revolver yardımı ile istenilen objektif ışık yolu üzerine getirilir.
- Mikro ayar vidası ile görüntü netleştirilir. Her büyütmede ışık ve diyafram ayarı tekrar yapılır.
- Preparat değiştirileceğinde veya inceleme sonlandırılacağında revolver yardımı ile en küçük büyüten objektif ışık yolu üzerine getirilir.
- Preparat çıkarılarak dezenfektan çözeltisi içerisine atılır.
- Mikroskop usulüne uygun olarak temizlendikten sonra plastik veya kumaş bir örtü ile örtülür ya da kutusuna yerleştirilir.

1.3. İmmersion Objektifiyle İnceleme

İmmersiyon objektifi ile çalışmada preparat ile objektif arasına sedir yağı konur. Sedir yağının kırılma (refraksiyon) indeksi (1,535) lamınki ile yakın değerde olduğundan kondansatörden gelerek lamdan geçen ışınlar tekrar kırılmadan sedir yağından düz olarak geçerek objektiften içeri girerler. Eğer sedir yağı kullanılmazsa preparat ile objektif arasında hava bulunacaktır ki bunun kırma indeksi 1 olduğundan lamdan geçen ışık, objektife girmeden tekrar yanlara doğru kırılacak ve objektife az ışık girecektir. Bu da iyi ve net bir görüntü sağlamaz. Sedir yağı kullanılınca çok daha aydınlık bir saha elde edilir. Sedir yağı gibi kullanılabilecek diğer sıvılar arasında balsam (1,524), euparal (1,483), gliserol (1,460) ve su (1,334) vardır.



Resim 1.4: Farklı büyütmede görüntü

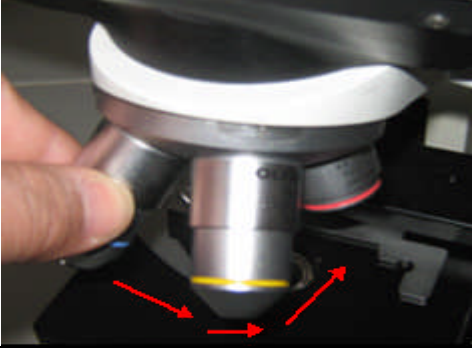

İmmersiyon objektifi ile inceleme aşamaları aşağıda açıklanmıştır.

- Kuru objektifle preparat incelemesi yapılır.
- Kuru objektifte inceleme yapılırken immersiyon objektifi ile incelenmek istenen yer görüntü alanının ortasına getirilir.
- Preparat üzerinde incelenecek bölgeye bir damla immersiyon yağı damlatılır.
- İmmersiyon objektifi ışık yolu üzerine getirilir.
- Tablanın kenarından bakılarak makro ayar vidası yardımıyla immersiyon objektif ucunun yağa temas etmesi sağlanır.
- Okülerden bakılarak makro ayar vidası çok yavaş olarak çevrilip görüntü bulunur.
- Mikro ayar vidası ile görüntü netleştirilir.
- Şaryo ile preparat hareket ettirilip farklı görüş alanları incelenirken diğer elle de mikro ayar vidası ile netlik sağlanır.
- İnceleme bittiğinde makro ayar vidası ile tabla en alt seviyeye indirilir.
- İmmersiyon objektifi ışık yolundan uzaklaştırılır.
- Preparat çıkarılarak dezenfektan çözültisi içerisine atılır.
- Mikroskop usulüne uygun olarak temizlendikten sonra plastik veya kumaş bir örtü ile örtülür ya da kutusuna yerleştirilir.

UYGULAMA FAALİYETİ-1

- Aşağıdaki işlem basamaklarını ve önerileri dikkate alarak mikroskopta preparat incelemesi yapınız.

Uygulamada kullanılan araç ve gereçler: Mikroskop, preparat, sedir yağı

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Preparatı mikroskop tablasına yerleştirerek sabitleyiniz. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Mikroskobu bir elinizle altından diğer elinizle kolundan sıkıca tutarak daima iki elle taşıyınız.➤ Mikroskobu sağlam, sallantısız masa üzerine yerleştiriniz.➤ Mikroskobu masanın kenarına fazla yakın koymayınız ve masanın üzerindeki gereksiz malzemeleri kaldırınız.➤ Mikroskobun kablolarının altta kalıp ezilmemesine dikkat edilmelidir.
<ul style="list-style-type: none">➤ Önce dörtlük objektifi preparat üzerine gelecek şekilde çeviriniz. 	<ul style="list-style-type: none">➤ En küçük objektifi ışık yolu üzerine getiriniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Mikroskobun ışığını açarak ışık ayarını yapınız. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Boyasız, az boyalı veya yoğun olmayan preparatlar incelenecekse ışık kısık, boyalı veya yoğun preparatlar incelenecekse ışık gücü açılmalıdır.

- Mikroskobun diyafram ayarını yapınız.



- Boyasız, az boyalı veya yoğun olmayan preparatlar incelenecekse diyafram kısık, boyalı veya yoğun preparatlar incelenecekse diyafram açık olmalıdır.

- Şaryo ayar vidasını çevirerek incelenecek alanı ışık üzerine getiriniz.



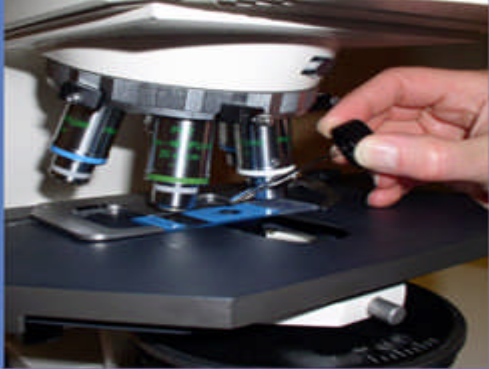
- Şaryo ayar vidasının iki kısımdan (preparatı ileri geri ve sağa sola doğru hareket ettiren) oluştuğunu unutmayınız.

- Makro ayar vidasını görüntüyü buluncaya kadar çeviriniz.



- Okülerden bakarak makro ayar vidasını görüntüyü buluncaya kadar yavaş yavaş çeviriniz.

<p>➤ Mikro ayar vidası ile görüntüyü netleştiriniz.</p> 	<p>➤ Okülerden bakarak mikro ayar vidasını görüntüyü netleşinceye kadar yavaş yavaş ileri geri çeviriniz.</p>
<p>➤ Görüş alanındaki görüntüyü inceleyiniz.</p> 	<p>➤ İnceleme yaparken gözlerinizi okülere yapıştırmayın. ➤ Monoküler mikroskoplarda dışarıda kalan gözünüzü kapatmamaya çalışın. Kapatmak uzun süreli çalışmada çok yorucu olur.</p> <p style="text-align: center;">Mikroskopun içine değil, mikroskopun içinden bakın!</p>
<p>➤ Görüş alanını şaryo ayar vidasını çevirerek değiştiriniz.</p>	<p>➤ Preparatı hareket ettirirken bir elinizle de mikro ayar vidası ile netliğin sürekliliğini sağlayın.</p>
<p>➤ Farklı görüş alanındaki görüntüleri inceleyiniz.</p>	<p>➤ Farklı görüş alanlarındaki gözlemlerinizi not ediniz.</p>
<p>➤ Sırasıyla 10x ve 40x büyütme objektifleri ile görüntüyü inceleyiniz.</p> 	<p>➤ Daha fazla büyüten objektife geçerken objektifin yerine oturduğundan emin olunuz.</p>

<ul style="list-style-type: none"> ➤ 100x büyütme objektifi görüntü üzerine gelecek şekilde çeviriniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Objektif ucunun preparata temas etmemesini sağlayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ İnceleme bölgesine bir damla sedir (immersiyon) yağı damlatınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Lamel ile kapatılmış preparatları en çok 40X büyüten objektifle inceleyin. 100X büyüten objektifin immersiyon yağı ile kullanılacağını unutmayın.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Objektifin merceği yağa değinceye kadar makro ayar vidasını çeviriniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tablanın yanından bakınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikro ayar vidası ile görüntüyü netleştiriniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Makro ayar vidası ile asla oynamayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Farklı görüş alanındaki görüntüleri inceleyiniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Preparat değiştireceğiniz zaman mutlaka en küçük büyüten objektifi devreye sokun. ➤ İncelemeniz bittiğinde preparatı çıkartıp mikroskop temizliğini yapınız.

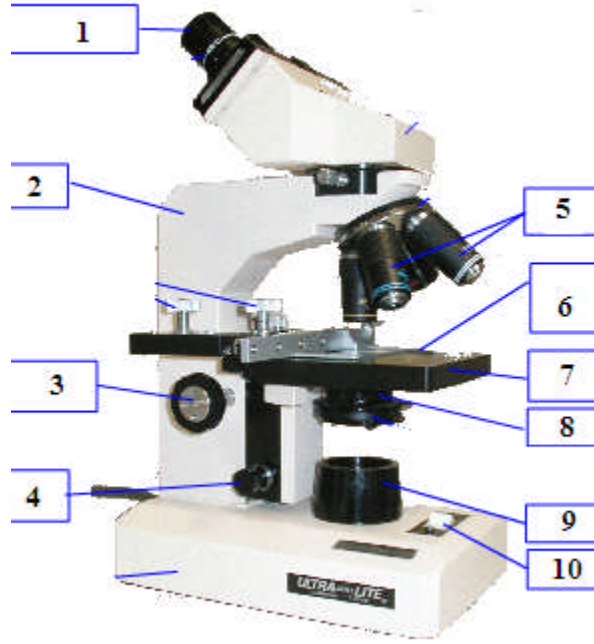
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. İmmersiyon objektifinin büyütme gücü ne kadardır?
A) 10
B) 40
C) 60
D) 100
2. Objektifin büyütme gücü 40, okülerin büyütme gücü 20 ise bu mikroskopla incelediğimiz cisimleri kaç kez büyütülmüş olarak görürüz?
A) 400
B) 800
C) 1000
D) 6000
3. Işık kaynağı olarak ultraviyole ışınlarının kullanıldığı mikroskop hangisidir?
A) Işık
B) Karanlık alan
C) Faz kontrast
D) Floresan
4. En fazla büyütme olanağı olan mikroskop hangisidir?
A) Floresan
B) Karanlık alan
C) Elektron
D) Faz kontrast
5. Günümüzde en yaygın kullanımı olan mikroskop türü aşağıdakilerden hangisidir?
A) Elektron mikroskobu
B) Aydınlık alan (ışık) mikroskobu
C) Faz-kontrast mikroskobu
D) Floresan mikroskobu
6. Kullandığınız mikroskobun incelediğiniz objeyi ne kadar büyüttüğünü nasıl hesaplırsınız?
A) Oküler ile kullandığınız objektife ait büyütme değerlerini çarparak
B) Objektif üzerinde yazan büyütme değerini okuyarak
C) Oküler ile objektife ait büyütme değerlerini toplayarak
D) Objektif ile okülere ait büyütme değerleri birbirinden çıkararak

Aşağıdaki tabloda boş bırakılan yerleri uygun kelimelerle doldurunuz.

7. Resimdeki mikroskopta önemli parçalar numara ile gösterilmiştir. Aşağıdaki tabloda boş bırakılan parça isimlerini yazınız.



1	
2	
3	
4	Mikro ayar vidası
5	
6	Sıkıştırma klipsleri
7	
8	Diyafram
9	
10	Açma kapama düğmesi

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Doğru cevap sayınızı belirleyerek kendinizi değerlendiriniz. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığınız sorularla ilgili konuları faaliyete dönerek tekrar inceleyiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-2

AMAÇ

Gerekli ortam sağlandığında tekniğine uygun olarak mikroskopla ölçüm yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Mikroskopla ölçüm işleminde kullanılan malzemeleri ve kullanım şekillerini araştırınız.
- Mikroskopla ölçümde hesaplamanın yapılış şeklini araştırınız.

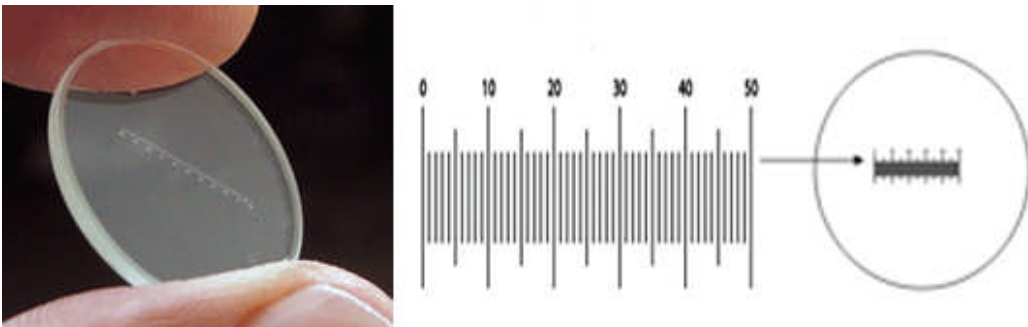
2. MİKROSKOPLA ÖLÇÜM

Bazı çalışmalarda mikroskopta görüntüsünü büyüterek incelediğimiz nesnelerin boyutlarının ölçümü gerekmektedir. Bu işlem genellikle araştırma kurum ve kuruluş laboratuvarlarında sıkça yapılan çalışmalar arasındadır. Bakteri hücreleri, küf hücre ve sporları, spor torbaları, hifler, parazit hücre ve yumurtaları vb. nesnelerin ebatlarının ölçümü mikroskopla yapılabilmektedir.

Mikroskopla nesnelerin boyutlarını ölçmede, oküler ve objektif mikrometre olmak üzere belli aralıklarla çizgilere sahip olan iki tane özel ölçek kullanılır.

2.1. Oküler ve Objektif Mikrometre

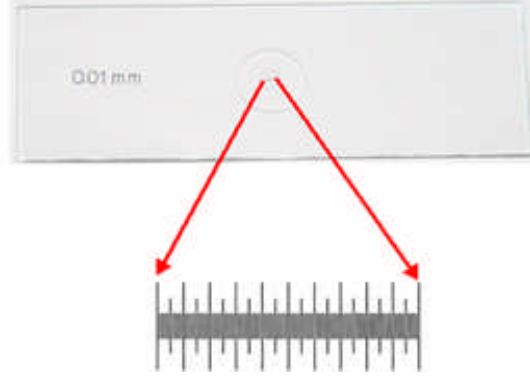
Oküler mikrometre, üzerinde belirli aralıklarla çizilmiş çizgilerden oluşan ölçeği bulunan daire şeklindeki bir lamdır. Okülere yerleştirilerek kullanılır. Ölçüm yapmadan önce objektif mikrometre ile çizgileri arasındaki mesafenin değerinin bulunması gerekir. Bu değer ölçümde kullanılacak objektifin büyütme gücüne göre değişir. Büyütme gücü arttıkça bu değer küçülür.



Resim 2.1: Oküler mikrometre

Objektif mikrometre, üzerinde 10 mikrometre aralıklarla çizilmiş çizgilerden oluşan ölçeği bulunan dikdörtgen şeklindeki bir lamdır. Lam üzerindeki 1 mm'lik mesafe 100 eşit parçaya bölünerek hazırlanmıştır.

Preparatta olduğu gibi mikroskop tablasına yerleştirilerek kullanılır. Asıl görevi oküler mikrometrenin çizgileri arasındaki mesafenin bulunmasıdır.



Resim 2.2: Objektif mikrometre

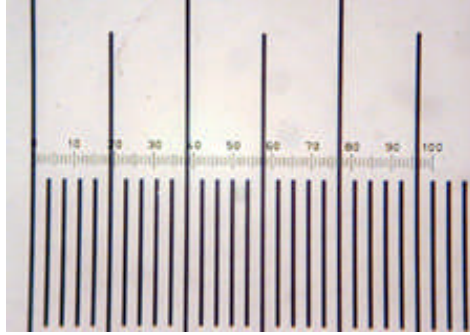
2.2. Mikroskopla Ölçüm Aşamaları

- Mikroskopun ışığı açılıp diyaframı kısılarak temiz olup olmadığı kontrol edilir. Temiz değilse oküler ve objektifler temizlenir.
- Oküler mikrometre, okülere yerleştirilir.
- Objektif mikrometre mikroskopun tablası üzerine konur ve maşalarla sabitlenir.
- Küçük büyütmeli objektifle bakılarak ölçekli kısmın görüntüsü bulunur.
- Ölçüm yapılacak objektif görüntü üzerine alınarak mikro ayar vidası ile görüntü netleştirilir.
- Oküler çevrilerek oküler ve objektif mikrometre ölçek çizgilerinin paralel hale gelmesi sağlanır.
- Şaryo ayar vidası yardımıyla ölçeklerin başlangıç çizgileri çakıştırılır.
- Objektif mikrometrede bulunan iki çizgi arası 10 mikrometre (0,01 mm) dir. İki çizgi arasına tam isabet eden oküler mikrometre çizgileri hesap edilir ve kaydedilir. Böylece, oküler mikrometre çizgilerinin aralıkları da hesap edilmiş olur.
- Objektif mikrometre çıkarılarak yerine preparat konur.
- Preparattaki mikroorganizmaların boyları veya çapı oküler mikrometre çizgileri yardımıyla ölçülür.

2.3. Hesaplama

➤ Oküler mikrometrenin çizgileri arasındaki mesafenin hesaplanması

Yukarıda anlatıldığı şekilde oküler ve objektif mikrometrenin çizgileri birbirine paralel hale getirilir ve başlangıç çizgileri çakıştırılır. Başlangıç çizgisinden sonra tam üst üste gelecek çakışan diğer çizgi tespit edilir. Oküler ve objektif mikrometrenin çakışan çizgilerinin kaçınıcı çizgi olduğu belirlenir ve oküler mikrometrenin çizgileri arasındaki mesafe hesaplanır.

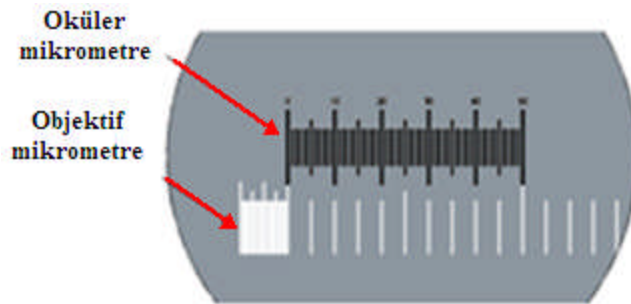


Resim 2.3: Mikroskopla ölçüm örnek 1

Örnek 1: Resim 2.3'deki mikroskop görüntüsünde oküler mikrometrenin 100. çizgisi objektif mikrometrenin 26. çizgisi ile çakışmaktadır. Objektif mikrometrede bulunan iki çizgi arası 10 mikrometre (0,01 mm) olduğundan

$$26 \times 10 = 260 \mu\text{m}$$

$$260 \mu\text{m} / 100 = 2,6 \mu\text{m} \text{ (Oküler mikrometrenin iki çizgisi arasındaki mesafe)}$$



Resim 2.4: Mikroskopla ölçüm örnek 2

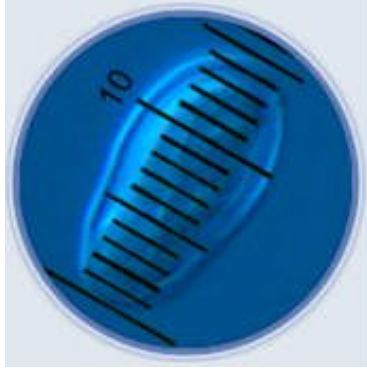
Örnek 2: Resim 2.4'teki mikroskop görüntüsünde oküler mikrometrenin 50. çizgisi objektif mikrometrenin 10. çizgisi ile çakışmaktadır. Objektif mikrometrede bulunan iki çizgi arası 10 mikrometre (0,01 mm) olduğundan

$$10 \times 10 = 100 \mu\text{m}$$

$$100 \mu\text{m} / 50 = 2 \mu\text{m} \text{ (Oküler mikrometrenin iki çizgisi arasındaki mesafe)}$$

➤ **Ölçümü yapılan nesnenin boyutlarının hesaplanması**

Yukarıda anlatıldığı şekilde incelenecek nesnenin görüntüsü mikroskopta bulunur. Oküler mikrometre ile ölçülecek kısım paralel hale getirilerek başlangıç çizgisi çakıştırılır ve ölçüm yapılır.

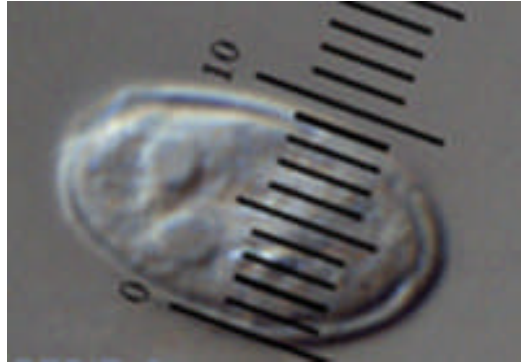


Resim 2.5: Mikroskopta ölçüm örnek 1

Örnek 1: Resim 2.5'teki mikroskop görüntüsünde ölçülecek mikroorganizma oküler mikrometre ile paralel hale getirilerek başlangıç çizgisi çakıştırılmıştır. Mikroorganizmanın boyu oküler mikrometrenin 15. çizgisine denk gelmiştir.

Bu durumda mikroorganizmanın boyu hesaplanırken 15 ile okülerin iki çizgisi arasındaki mesafe değeri ile çarpılarak hesaplanır.

Okülerin iki çizgisi arasındaki mesafe değeri $2 \mu\text{m}$ ise mikroorganizmanın boyu $15 \times 2 = 30 \mu\text{m}$ 'dir.



Resim 2.6: Mikroskopta ölçüm örnek 2



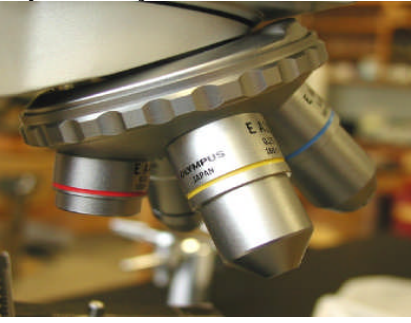
Örnek 2: Resim 2.6'daki mikroskop görüntüsünde mikroorganizmanın eni oküler mikrometrenin 9. çizgisine denk gelmiştir. Bu durumda mikroorganizmanın boyu hesaplanırken 9 ile okülerin iki çizgisi arasındaki mesafe değeri ile çarpılarak hesaplanır.

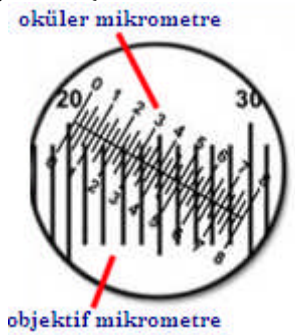

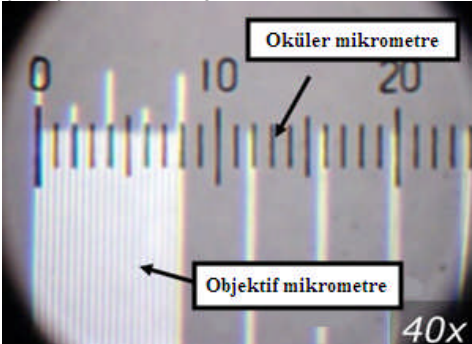
Okülerin iki çizgisi arasındaki mesafe değeri $2 \mu\text{m}$ ise mikroorganizmanın boyu $9 \times 2 = 18 \mu\text{m}$ 'dir.


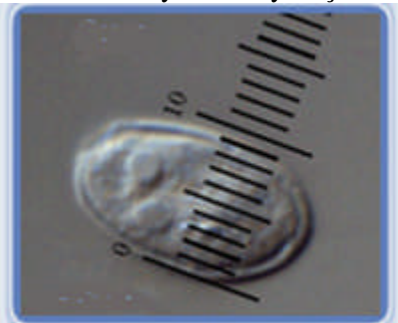
UYGULAMA FAALİYETİ

- Aşağıdaki işlem basamaklarını ve önerileri dikkate alarak mikroskolla ölçüm yapınız.

Uygulamada kullanılan araç gereçler: Mikroskop, oküler mikrometre, objektif mikrometre, preparat, sedir yağı

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Oküler mikrometreyi okülere yerleştiriniz. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Mikroskopun ışığı açılıp diyaframı kısılarak temiz olup olmadığı kontrol edilir.➤ Temiz değilse temizlendikten sonra oküler mikrometre yerleştirilir.
<ul style="list-style-type: none">➤ Objektif mikrometreyi mikroskop tablasına yerleştirerek sabitleyiniz. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Objektif mikrometre ve oküler mikrometreyi kenarlarından tutunuz. Yüzeyine dokunmayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Ölçüm yapılacak objektifi çalışma bölümüne gelinceye kadar çeviriniz. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Çalışma yuvasına tam olarak yerleştikten emin olunuz.

<p>➤ Mikroskopun ışık ve diyafram ayarlarını yapınız.</p>	<p>➤ Gereğinden fazla ışığı açmayınız.</p>
<p>➤ Objektif mikrometre cetvelini ışık üzerine getiriniz.</p>	<p>➤ Şaryoyu kullanınız.</p>
<p>➤ Görüntüyü bulunuz.</p>	<p>➤ Makro ayar vidasını kullanınız.</p>
<p>➤ Görüntüyü netleştiriniz.</p> 	<p>➤ Mikro ayar vidasını kullanınız.</p>
<p>➤ Oküler mikrometredeki cetvelin çizgileri objektif mikrometre çizgilerine paralel oluncaya kadar oküleri çeviriniz.</p> 	<p>➤ Oküler mikrometre bulunan oküleri yavaş yavaş döndürünüz.</p>
<p>➤ Cetvel başlangıç çizgileri çakışmaya kadar şaryo ayar vidasını çeviriniz.</p> 	<p>➤ Başlangıç çizgilerinin tam olarak üst üste geldiğinden emin olunuz.</p>
<p>➤ Diğer çakışan çizgiyi belirleyiniz.</p>	<p>➤ Başlangıç çizgilerini sıfır olarak değerlendirerek sayınız.</p>

<ul style="list-style-type: none"> ➤ Oküler mikrometrede iki çizgi arasının ölçü miktarını hesaplayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Objektif mikrometrenin çizgileri arasındaki mesafenin $10 \mu\text{m}$ olduğunu unutmayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Objektif mikrometreyi çıkartınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Temizleyip kutusuna koyunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ölçüm yapılacak preparatta görüntüyü bulunuz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Uygulama faaliyeti 1'de olduğu gibi çalışınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ölçüm yapılacak nesneyi oküler mikrometrenin cetveliyle karşılaştırınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Oküleri çevirerek paralel hale getirmeyi unutmayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Oküler mikrometreyle nesneyi ölçünüz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Küsüratları göz kararı orantısal olarak belirleyiniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ölçümü yapılan nesnenin ebatlarını hesaplayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ölçü birimlerini yazmayı unutmayınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki cümlelerde boş bırakılan yerleri uygun kelimelerle doldurunuz.

1. Mikroskopla nesnelerin boyutlarını ölçmede ve olmak üzere belli aralıklarla çizgilere sahip olan iki tane özel ölçek kullanılır.
2. üzerinde 10 mikrometre aralıklarla çizilmiş çizgilerden oluşan ölçeği bulunan dikdörtgen şeklindeki bir lamdır.
3. Oküler mikrometrenin 100. çizgisi objektif mikrometrenin 50. çizgisi ile çakışırsa oküler mikrometrenin iki çizgisi arasındaki mesafe μm olur.
4. Ökaryotik organizmalar ve bakteriler, virüsler, atom ve moleküller de angstrom olarak ölçülmektedir.
5. Mikroskopla ölçüm yapmadan önce objektif mikrometre ile çizgileri arasındaki mesafenin değerinin bulunması gerekir.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Doğru cevap sayınızı belirleyerek kendinizi değerlendiriniz. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığınız sorularla ilgili konuları faaliyete dönerek tekrar inceleyiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-3

AMAÇ

Gerekli ortam sağlandığında tekniğine uygun olarak mikroorganizmalarda hareket muayenesi yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Mikroorganizmaların taşınma şekillerini araştırınız.
- Mikroorganizmaların hareketli olup olmadığını nasıl anlarız? Araştırınız.

3. MİKROORGANİZMALARDA HAREKET

3.1. Mikroorganizmalarda Hareket ve Hareket Organeli

Bazı bakteriler, kamçı (flagella) adı verilen hücre organelleri sayesinde aktif hareket yeteneğine sahiptirler. Kamçılar, sitoplâzmadan kaynağını alarak hücre dışına uzanan iplik şeklinde uzantılar olup bakterilerin hareket organelidir. Bundan başka, hücrede olduğu yerde bir titreme hareketi vardır ki buna **brownian hareketi** denir. Bir de bakterinin kendi gayreti olmaksızın çevresel faktörlerin etkisi ile bulunduğu yerden başka bir yere taşınması olayı vardır ki buna **pasif hareket** denir. (Örneğin, rüzgârla, suyla veya çarpma sonucunda taşınma gibi.) Bunları gerçek hareket olan aktif hareketle karıştırmamak gerekir.

Bazı mikroorganizma türleri (*Salmonella*, *E. coli* vb.) kendilerinde bulunan kamçılar yardımı ile aktif hareket ederler ve yer değiştirirler. Diğer bir kısmı da (*M. tuberculosis*, *C. pyogenes* vb.) kamçıya sahip değildir ve bu nedenle aktif hareket edemezler. Ancak, bunlar buldukları yerde brownian hareketine sahiptirler. Bazı mikroorganizmalar da (*leptospiralar* gibi) kamçıya sahip olmamalarına rağmen bükülerek, kıvrılarak, sürünerek aktif hareket edebilirler.

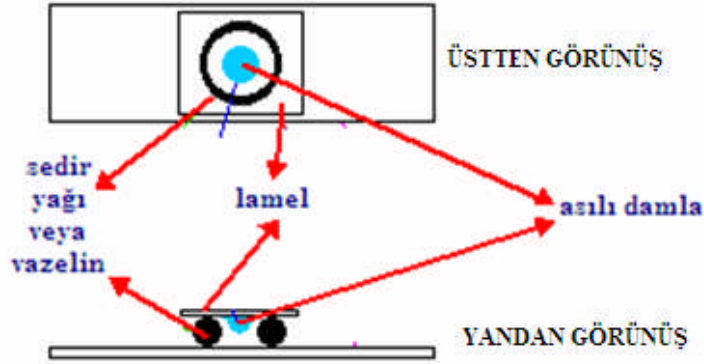
3.2. Mikroorganizmalarda Hareket Muayene Yöntemleri

Bakterilerde hareketlilik, kamçı varlığının belirlenmesi ile değil, hareketin gözlenmesi ile tespit edilmektedir. Makroskobik ve mikroskobik olarak yapılabilen hareketlilik testinde uygun koşullarda geliştirilmiş 18 – 24 saatlik genç kültürler ihtiyacı vardır. Bakterilerin hareket kontrolü farklı yöntemlerle yapılabilmektedir.

3.2.1. Asılı Damla Yöntemi

Hareket muayenesi yapılacak mikroorganizmanın önce, uygun koşullarda (ısı, süre, besiyeri gibi) sıvı bir besiyerinde taze saf kültürünün (18–24 saatlik) yapılması gereklidir. Bu yöntemle inceleme yapabilmek için özel lamlara (ortası çukur veya üzerinde metal veya plastik silindirik halka bulunan lamlar) ihtiyaç vardır.

Temiz bir lamelin dört köşesine vazelin veya sedir yağından çok az miktarlarda sürülür. Taze sıvı kültürden bir öze dolusu alınarak lamelin ortasına konur. Çukur lam ters çevrilerek çukur kısmı kültürün üzerine gelecek şekilde kapatılır. Vazelin veya sedir yağı lam ile lamelin yapışmasını sağlar. Lamı seri bir şekilde ters çevirerek lamelin üste gelmesi sağlanır. Lamelin üzerine konan sıvı kültürün asılı halde (boşlukla sarkar bir durumda) kaldığı kontrol edilir. Kültür kenarla kesinlikle temas etmemelidir.



Şekil 3.1. Asılı damla

Hazırlanan asılı damla preparatı mikroskopta incelenir. Mikroskop kullanırken mikroskopun eğilmemesi, diyaframının yeterince kısılarak iyi bir kontrast sağlanması iyi bir görünüm sağlar. Mikroskop düz bir zemin üzerine yerleştirilmiş olmalı ve sıvı akışı olmamalıdır.

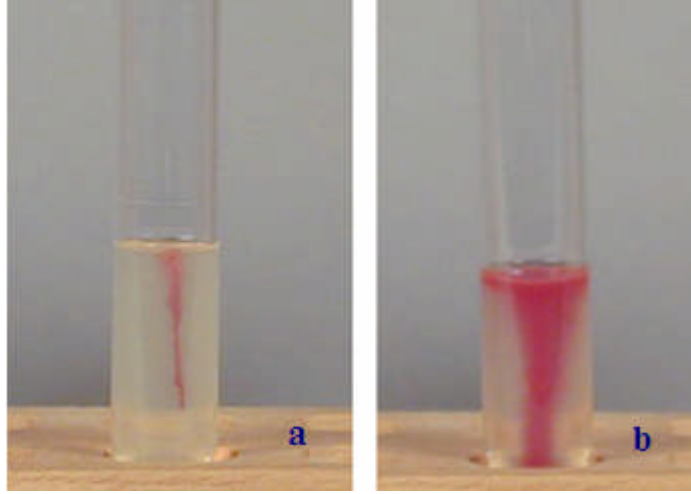
Lüzumu halinde, katı besiyerlerinde üremiş kolonilerden de hareket muayenesi yapılabilir. Bunun için steril fizyolojik tuzlu su içerisinde koloni iyice çözündürülerek sıvı kültüre dönüştürüldükten sonra hareket muayenesi yapılır.

3.2.2. Lam Lamel Arası Muayene

Hareket yönünden incelenecek mikroorganizmanın uygun koşullarda taze saf kültürü hazırlanır. Kültürden 2–3 öze dolusu alınarak temiz bir lam üzerine konur. Lam üzerindeki bu kültür sıvısına yaklaşık 45° lik bir eğimle bir lamel temas ettirilerek yavaşça lam üzerine kapatılır. Bu aşamada lam ile lamel arasında meydana gelebilecek hava kabarcıklarının engellenmesine dikkat edilmelidir. Bu şekilde hazırlanan preparatta, lamel üzerine immersiyon yağı damlatılarak hiç bekletilmeden mikroskopta 100'lük objektif kullanılarak karanlık saha veya normal ışık mikroskopunda inceleme yapılır.

3.2.3. Yarı Katı Besiyeri Yöntemi

Hareket muayenesi istenen mikroorganizmanın taze ve saf sıvı kültürü hazırlanır. Bu kültüre daldırılan steril iğne öze 10 cm yüksekliğindeki berrak yarı katı ortama (% 0,3–0,5 agarlı) dibe kadar daldırılır ve çıkarılır. Bundan sonra besiyeri 37°C'de 24-48 saat inkübasyona konur ve sonuç gözlemlenir. Eğer besiyerinin yüzeyinde ve inokulasyon hattı boyunca sağa veya sola doğru bir dallanma ve yayılma yoksa mikroorganizma hareketsizdir. Eğer inokulasyon hattından etrafa doğru bir yayılma ve dallanma gözlenirse mikroorganizma hareketli kabul edilir.



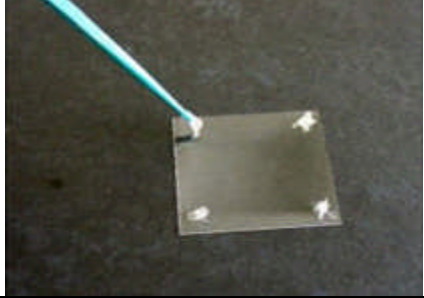


Resim 3.1. Yarı katı besiyerinde hareket muayenesi a) Hareketsiz b) Hareketli


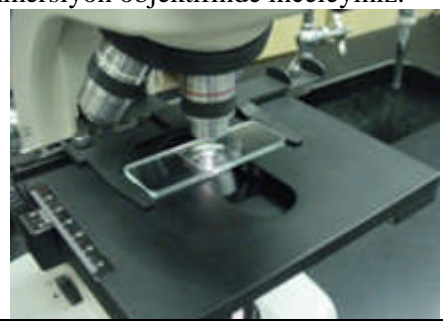

Yarı katı ortamlarda hareket muayenesi, zaman alıcı olması ve sonucun tam kesin gözlemlenememesi gibi sakıncaları nedeniyle az tercih edilen bir yöntemdir.

UYGULAMA FAALİYETİ

- Aşağıdaki işlem basamaklarını ve önerileri dikkate alarak asılı damla yöntemiyle mikroorganizmalarda hareket muayenesi yapınız.

Uygulamada kullanılan araç gereçler: Çukur lam, lamel, sedir yağı, vazelin, FTS, katı veya sıvı kültür, öze, saf su, kültür, bunzen beki, mikroskop, dezenfektan çözelti

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Kültür katı ise FTS içerisinde çözündürerek sıvı kültüre dönüştürünüz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Aseptik teknik uygulayınız.➤ Kültürün tamamen çözünmesini sağlayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Lamelin 4 kenarına sedir yağı veya vazelin sürünüz. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Lamele parmağınızla dokunmayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Lamelin ortasına sıvı kültürden bir öze dolusu olarak koyunuz. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Özeyi bunzen bek alevinde steril edip soğuttuktan sonra kullanınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Çukur lamın çukur kısmı kültürün üzerine gelecek şekilde kapatınız. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Kültürün ortada kalmasını sağlayınız.

<p>➤ Lamı ters çevirerek lamelin üste gelmesini sağlayınız.</p> 	<p>➤ Dikkatli ve seri çalışınız.</p>
<p>➤ Asılı damla preparatını mikroskopta immersiyon objektifinde inceleyiniz.</p> 	<p>➤ Sedir yağı damlatmayı unutmayınız.</p>
<p>➤ İncelemesi biten preparatları dezenfektan içerisine atınız.</p> 	<p>➤ Ellerinizi yıkamayı unutmayınız.</p>

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki cümlelerde boş bırakılan yerleri uygun kelimelerle doldurunuz.

1. Bakterilerde aktif hareketi sağlayan hareket organeli dır.
2. Bakterilerin kendi gayreti olmaksızın, çevresel faktörlerin etkisi ile bulunduğu yerden başka bir yere taşınması olayına denir.
3. Hareketlilik testleri uygun koşullarda geliştirilmiş saatlik genç kültürlerle yapılır.
4. Yarı katı ortamlarda hareket muayenesi, alıcı olması ve sonucun tam kesin gözlemlenememesi gibi sakıncaları nedeniyle az tercih edilen bir yöntemdir.
5. Yarı katı besiyerlerinde hareket muayenesinde % agar içeren besiyerleri kullanılır.
6. Yarı katı besiyerlerinde hareket muayenesinde besiyerinin yüzeyinde ve inokulasyon hattı boyunca sağa veya sola doğru bir dallanma ve yayılma yoksa mikroorganizma demektir.
7. Katı kültürlerden hareket muayenesi yapılacaksa içerisinde koloni iyice çözündürülerek sıvı kültüre dönüştürüldükten sonra mikroskopik inceleme yapılır.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise “Modül Değerlendirme”ye geçiniz.

MODÜL DEĞERLENDİRME

- **Mikroskopla ekmek mayası preparatını inceleyip boyutlarını ölçünüz.**

Gerekli malzemeler: Mikroskop, oküler mikrometre, objektif mikrometre, sedir yağı, preparat, mikroskop temizleme solüsyonu

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Laboratuvar kıyafetinizi giyip çalışma öncesi hazırlıklarınızı yaptınız mı?		
2. Preparatı mikroskop tablasına yerleştirerek sabitlediniz mi?		
3. Mikroskopun ışık ve diyafram ayarlarını yaptınız mı?		
4. Şaryo ayar vidasıyla incelenecek alanı ışık üzerine getirdiniz mi?		
5. Makro ve mikro ayar vidası ile görüntüyü bulup netleştirdiniz mi?		
6. Sırasıyla dört, on ve kırk büyütmeli objektifle farklı görüş alanlarında görüntüleri inceleyiniz.		
7. Oküleri mikrometreyi okülere, objektif mikrometreyi mikroskop tablasına yerleştirdiniz mi?		
8. Kırk büyütmeli objektifte ışık ve diyafram ayarlarını yaptınız mı?		
9. Objektif mikrometre cetvelini ışık üzerine getirerek görüntüyü netleştirdiniz mi?		
10. Oküler mikrometredeki cetvelin çizgileri objektif mikrometre çizgilerine paralel oluncaya kadar oküleri çevirdiniz mi?		
11. Cetvel başlangıç çizgilerini şaryo ayar vidası ile çakıştırdınız mı?		
12. Diğer çakışan çizgiyi belirlediniz mi?		
13. Oküler mikrometrenin iki çizgisi arasındaki mesafenin değerini hesapladınız mı?		
14. Objektif mikrometreyi çıkartıp ölçüm yapılacak preparatı tablaya yerleştirdiniz mi?		

15. Preparatta görüntüyü bulup ölçüm yapılacak nesneyi oküler mikrometrenin cetveliyle çakıştırdınız mı?		
16. Oküler mikrometreyle nesnenin ebatlarını ölçtünüz mü?		
17. Ölçümü yapılan nesnenin ebatlarını hesapladınız mı?		
18. İncelemeniz bittiğinde preparatı ve oküler mikrometreyi çıkartıp preparatı dezenfektan içerisine, oküler mikrometreyi kutusuna kaldırdınız mı?		
19. Mikroskop temizliğini yaptınız mı?		
20. Mikroskobu kapatıp örtüsünü örttünüz mü?		

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki modüle geçmek için öğretmeninize başvurunuz.

CEVAP ANAHTARLARI

ÖĞRENME FAALİYETİ-1'İN CEVAP ANAHTARI

1.	D	
2.	B	
3.	D	
4.	C	
5.	B	
6.	A	
7.	1	Oküler
	2	Kol
	3	Makro ayar vidası
	5	Objektif
	7	Tabla
	9	Işık kaynağı

ÖĞRENME FAALİYETİ-2'NİN CEVAP ANAHTARI

1.	Oküler mikrometre- objektif mikrometre
2.	Objektif mikrometre
3.	5
4.	Mikrometre- nanometre
5.	Oküler mikrometre

ÖĞRENME FAALİYETİ-3'ÜN CEVAP ANAHTARI

1.	Kamçı (Flagella)
2.	Pasif hareket
3.	18-24
4.	Zaman
5.	0,3-0,5
6.	Hareketsiz
7.	FTS

KAYNAKÇA

- AKŞİT Filiz, Yurdanur AKGÜN, Nuri KİRAZ, **Genel Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Yayınları**, Eskişehir, 1995.
- ARDA Mustafa, **Temel Mikrobiyoloji, Medisan Yayınları**, Ankara, 2000.
- DURLU ÖZKAYA Fügen, **Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayınları**, Ankara, 2000.
- TEMİZ Ayhan, **Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri**, Şafak Yayınları, Ankara, 1994.
- ZOR Muhsin, **Laboratuvar Uygulamaları ve Fen Öğretiminde Güvenlik, Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Yayınları**, Eskişehir, 1999.
- <http://egitek.meb.gov.tr>
- http://www.epa.gov/ogwdw000/lt2/training/module_basicmicroscopy/scopage_dir/basic/basic.html
- <http://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/methods/microscopy/measuring.html>
- <http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/indexmag.html?http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/artmar02/ccmeasure.html>
- http://www.alpenacc.edu/faculty/milostanm/html_ppt/ocular-micrometer-calibration-and-measurements.html
- <http://biology.uwsp.edu/faculty/TBarta/MicroImages2.html>
- http://www.biophysics.uwa.edu.au/STAWA/magbac_4.html
- http://www.botany.hawaii.edu/faculty/webb/BOT410/ZeissM63Lab/calibration_of_the_zeiss_m35_pho.htm
- <http://micro.magnet.fsu.edu/primer/anatomy/cleaning.html>
- http://dbs.umt.edu/courses/biol101S04/labs/Wyrick_s04/4_microscope.htm