**Bakteri Hücrelerini Boyama Ve İnceleme**



**Deneyin Amacı :**

Bu çalışmada , biberi su içerisinde çoğalan bakterileri daha iyi görebilmek ve incelemek üzere boyama tekniğini öğreneceksiniz.

**Deney Malzemeleri :**

taneli karabiber – su karışımı, İmmersiyon objektifli mikroskop, İmmersiyon yağı, Lam ve lameller, Ans , Damlalık, Kristal viyole boyası, Bardak, Kurutma kağıdı

**Teorik Bilgi :**

Mercekler üzerinde çalışan Hollandalı Antony Van LEEUWENHOOEK ( Antoni Van Lövenhuk ), 1676 yılında karabiber tanelerini suda bırakarak 1 – 2 hafta sonra bu sudan aldığı bir damlayı basit mikroskobu ile incelemiş ve bakterileri keşfetmiş.

**BAKTERİ**

Bakteriler tek hücreli mikroorganizma grubudur. Tipik olarak birkaç mikrometre uzunluğunda olan bakterilerin çeşitli şekilleri vardır, kimi küresel, kimi spiral şekilli, kimi çubuksu olabilir. Yeryüzündeki her ortamda bakteriler mevcuttur. Toprakta, deniz suyunda, okyanusun derinliklerinde, yer kabuğunda, deride, hayvanların bağırsaklarında, asitli sıcak su kaynaklarında, radyoaktif atıklarda büyüyebilen tipleri vardır. Tipik olarak bir gram toprakta bulunan bakteri hücrelerinin sayısı 40 milyon, bir mililitre tatlı suda ise bir milyondur; toplu olarak dünyada beş nonilyon (5×1030) bakteri bulunmaktadır, bunlar dünyadan biyokütlenin çoğunu oluşturur. Bakteriler gıdaların geri dönüşümü için hayati bir öneme sahiptirler ve gıda döngülerindeki çoğu önemli adım, atmosferden azot fiksasyonu gibi, bakterilere bağlıdır. Ancak bu bakterilerin çoğu henüz tanımlanmamıştır ve bakteri şubelerinin sadece yaklaşık yarısı laboratuvarda kültürlenebilen türlere sahiptir. Bakterilerin araştırıldığı bilim bakteriyolojidir, bu, mikrobiyolojinin bir dalıdır.

İnsan vücudunda bulunan bakteri sayısı, insan hücresi sayısının on katı kadardır, özellikle deride ve sindirim yolu içinde çok sayıda bakteri bulunur. Bunların çok büyük bir çoğunluğu bağışıklık sisteminin koruyucu etkisisiyle zararsız kılınmış durumda olsalar, ayrıca bir kısmı da yararlı (probiyotik) olsalar da, bazıları patojen bakterilerdir ve enfeksiyöz hastlıklara neden olurlar; kolera, frengi, şarbon, cüzzam ve veba bu cins hastalıklara dahildir. En yaygın ölümcül bakteriyel hastalıklar solunum yolu enfeksiyonlarıdır, bunlardan verem tek başına yılda iki milyon kişi öldürür, bunların çoğu Sahra altı Afrika'da bulunur. Kalkınmış ülkelerde bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde ve çeşitli hayvancılık faaliyetlerinde antibiyotikler kullanılır, bundan dolayı antibiyotik direnci yaygınlaşmaktadır. Endüstride bakteriler, atık su arıtması, peynir ve yoğurt üretimi, biyoteknoloji, antibiyotik ve diğer kimyasalların imalatında önemli rol oynarlar.

Bir zamanlar bitkilerin Schizomycetes sınıfına ait sayılan bakteriler artık prokaryot olarak sınıflandırılırlar. ökaryotlardan farklı olarak bakteri hücreleri hücre çekirdeği içermez, membran kaplı organeller de ender olarak görülür. Gelenekesel olarak bakteri terimi tüm prokaryotları içermiş ancak, 1990'lı yıllarda yapılan keşiflerle prokaryotların iki farklı gruptan oluştuğu, bunların ortak bir atadan ayrı ayrı evrimleşmiş oldukları bulununca bilimsel sınflandırma değişmiştir. Bu üst alemler Bacteria ve Archaea olarak adlandırılmıştır.

**Deneyin Yapılışı :**

**Ön Hazırlık :**

Çalışmaya başlamadan bir hafta önce, su bulunan bir kültür kabına taneli karabiber koyarak ekleyiniz. Deneyden önce kristal viyole boyasını hazırlayınız. Bakterileri, bitki dokularını boyamak ve mitozu göstermek için kullanılan kristal viyole boyası şöyle hazırlanır:

**Çözelti A :**

Kristal viyole ( boya toz halde ) 2,5 g ( = gram)

Etil alkol 12 ml ( = mililitre )

**Çözelti B :**

Anilin yağı ( Anilin Oil ) 2 ml ( = mililitre )

Saf su 98 ml ( = mililitre )

Bu iki çözelti ayrı ayrı hazırlandıktan sonra iyice sallayınız ve 5 dakika bekletiniz. Daha sonra süzgeç kağıdından süzerek A ve B çözeltilerini karıştırınız.

( Not: kristal viyole hazırsa bu işlemi yapmanıza gerek yoktur.)

**Deneyin Yapılışı :**

Lamı alkolle silip iyice temizledikten sonra bir havagazı alevinin mavi kısmından 3 defa yavaşça geçiriniz.

Lam soğuduğu zaman, biberli sudan ans ile bir damla alınız ve bunu lam üzerinde küçük bir alana yayınız.

Bu damlayı ince bir tabaka meydana getirmek üzere kurumaya bırakınız.

Bakteri tabakası üst kısımda kalmak üzere lamı alevden 3 – 4 defa hızla geçiriniz. Bu suretle bakterileri lam üzerine tespit etmiş olursunuz.

Lamı oda sıcaklığında soğumaya ve kurumaya bırakınız.

Lamı, içinde temiz su bulunan bir bardağa daldırıp çıkarınız.

Lam ıslak durumda iken bakteri tabakasının üzerini bir iki damla kristal viyole damlatarak örtünüz.

Bu boyanın fazla olan kısmını almadan önce preparat üzerinde 15 – 20 saniye bırakınız.

Temiz bir su içerisinde lamı birkaç kere durulayınız.

Suyu lamın bir köşesinden eğik tutarak akıtınız ve kurumaya bırakınız.

**Bakterilerin mikroskopta incelenmesi :**

Boyanmış bakteri preparatınıza önce küçük ve büyük objektifle bakınız. Sonra üzerine bir damla immersiyon yağı damlatarak immersiyon objektifi ile inceleyiniz. Objektifin ucu yağ damlasına değecektir. Bu işlemi çok dikkatli yapmalısınız.

Boyanmış preparatı net bir şekilde görmek için mutlaka ince ayar vidasını kullanınız.

Mikroskobunuzun görüş alanı içinde çeşitli koküs ve basiller arayınız. Gördüklerinizin şekillerini çiziniz ( Spiriller daha zor görünür ). Eğer görebilirseniz bir spiril bakterinin de şeklini çiziniz.

**Deneyin Sonucu :**

**Tartışma Soruları :**

İncelediğiniz bakterilerin şekil bakımından farklarını görebildiniz mi?

Kaç çeşit koküs gördünüz?

Gördüğünüz basiller ve koküsler gibi çeşitli midiler?

İncelediğiniz bakteri tiplerinden hangileri daha büyüktü?

İncelediğiniz bakteriler insan için zararsızdır. Yardımcı kitaplardan faydalanarak, hangi hastalıkların koküs, basil ve spiril bakteriler tarafından meydana getirildiğini öğrendiniz.