

OMURGASIZ HAYVANLARIN ÖLDÜRÜLMESİ, TESBIT, MUHAFAZA VE BOYAMA USULLERİ

Practical Invertebrate Anatomy (W.S. BULLOUGH)
(MacMillan & Co. Limited LONDON 1950) den çeviren:

MÜŞFİKA SEZEN
İst. Üniv. Zoologi Enstitüsü

PROTOZOA

Fiksasyon metodları:

a — Serbest yaşayan *Protozoon*'lar.

Bütün serbest yaşayan *Protozoon*'lar aşağıda anlatılacağı tarzda fikse edilebilirler. Hayvanlar, iyi bir pipete, mümkün olduğu kadar küçük bir su damlası ile birlikte alınır (icap ediyorsa, fert miktarını kesifletirmek için, kültür sıvısı dikkatle sentrifüj edilir). Bir dakika kadar pipet bekletilir (bilhassa, *Amip*'lerin içeri çekilmiş olan psödopotlarını tekrar uzatmaları için lüzumludur). Sonra su damlası sür'atle bir kaç cc. SCHAUDINN fiksatifi (*) ile karıştırılır ve 15 dakika kadar bırakılır. Bir hücreli hayvanları kesifletirmek için tekrar dikkatle sentrifüj edilir; sonra bir kaç cc. % 70 alkol içine az miktarda fiksatifle beraber çok fazla hayvan, pipetle çekilip konur. Bir kaç dakika sonra % 90 ve sonra da absöü alkole geçirilir; her alkol değişiminden evvel dikkatle sentrifüj yapılır. Lâmlara ince bir yumurta akı tabakası sürülür, hazırlanan bir hücreli, bir pipetle, her lâma 1 cm. kadar yüksekten birer küçük damla sıvı ile beraber bırakılır (düşmeden ve albuminin hemen koagülesinden dolayı *Protozoon*'lar, lâma sıkıca yapışır). Bundan sonra, lâmlar doğrudan doğruya absöü alkole konulmalıdır.

(*) Arada adları geçen fiksatif, preservatif ve boyaların hazırlanması, bu yazıların sonunda verilecektir. (M. S.)

b — Sabit (sederter) *Protozoon*'lar.

Vorticella için en basit metod, içinde hayvanların bol olduğu kültür veya havuza lâmları, açık bir kafesle yerleştirmektir. Bir kaç gün sonra çok sayıda hayvan takıldığı zaman, lâmlara **SCHAUDİNN** fiksatif v.s. gibi bir fiksatif birdenbire bolca dökülür; 15 dakika kadar bırakılır ve % 70 alkole geçirilir.

c — Sindirim borusunda parazit olan *Protozoon*'lar.

Barsağında *Opalina* ve *Nyctotherus* bulunan bir kurbağanın rektum muhteviyatından az bir kısım alınır, bir lâm üzerine ince bir tabaka halinde sürülür ve parazitlerin bulunduğu müşahede edilir. Bu tabaka, bir kaç dakika veya kenarları kurumağa başlayınca kadar havada bırakılır ve sonra lâm, **SCHAUDİNN** fiksatifine konur. 15 dakika sonra % 70 alkole geçirilir.

d — *Monocystis*: Kuru bir kap içinde, eşemsel bakımdan olgun bir toprak solucanı, geniş bir şekilde açılır ve vesikula seminalisinin biri kesilip çıkarılır. Önceden, nefesle buğulandırılmış olan lâm üzerine, vesikula muhteviyatı, ince bir bulaşık halinde yayılır. Hazırlanan lâm, fiksatif içine konur (ya **SCHAUDİNN**, ya **BOUİN** fiksatifleri veya sadece % 90 alkol); % 70 alkole geçirmeden evvel, burada 15 dakika kadar bırakılır.

Boyama metodu:

Evciksiz (çıplak) *Protozoon*'lar.

Üzerine bir hücreli hayvanlar yapıştırılmış olan lâmlar, sıra ile % 90, % 70, % 50 ve % 30 alkollerden (her birinde 2 dakika kadar) suya geçirilir. Sonra, bunlar doğrudan doğruya haematoxylin eriyiğine (**DELAFIELD**'in, **EHRLİCH**'in veya **MAYER**'in eriyiklerinden biri) konur; sitoplazma değil, nukleus iyice boyanmaya kadar bırakılır (eriyiğin işleyişine göre, boyama zamanı, muhtemelen 5 dakikadan 20 dakikaya kadar değişir). Fazla boya suda yıkanır ve lâmlar, zayıf alkali olan suda 1-2 dakika bırakılarak, boyanın sabit bir halde mavi renge dönmesi sağlanır (lâzımsa, 250 cc. kadar suya bir damla derişik amonyak ilâve edilerek alkali su yapılabilir). Sonra, sitoplazma eosin içinde, zıt olarak kırmızıya boyanır. Tekrar boyanın fazlası suda yıkanır ve lâmlar % 30, % 50, % 70, % 90 ve absölü alkollerden (her birinde 2 dakika) xylol'e

geçirilir. Küçük bir damla Kanada balsamı, preparat üzerine konur ve bir lâmelle üzeri örtülür.

Eğer hayvanlar haematoxylin'de fazla boyanmışsa, bu fazlalık, %70 alkolün % 1 hydrochloric asid eriyiği içine konur, bundan sonra tekrar alkali % 70 alkol içinde boyayı maviye çevirmek lâzımdır. Eosinde daha fazla boyanması imkânsızdır.

PORİFERA

Fiksasyon metodu:

Deniz ve tatlı su süngerlerinin her ikisi 24 saat % 70 veya % 90 alkolden sonra % 90 veya absolü alkolde fikse edilir ve saklanabilirler. Formalin veya diğer sulu solüsyonlar kullanılmamalıdır.

Spikül çıkarılması:

Bir sünger parçası, kesif bir potasyum hidroksit solüsyonunda kaynatılır ve hücreler eridiği zaman spiküller serbest kalır. Mayi mümkün olduğu kadar fazla boşaltılarak su konur ve spiküllerin çökmesi beklenir. Yıkama ameliyesini tekrarladıktan sonra, spiküller pipetle çekilip bir lâma konur ve bir lâmelle üzeri kapatılır.

COELENTERATA

Fiksasyon metodları:

Deniz anası dahil, bütün *Coelenter*'lerin iyi yayılmış nümunelerini elde etmek için, bunları ihtiva eden az bir miktar suya magnezyum sülfat kristali (Epsom tuzu) veya menthol kristalleri ilâve ederek, onları narkotize etmek lâzımdır. Sonra, 10 dakika fasıla ile, damla damla ticarî formalin, bütün hacmin 1/10 u oluncaya kadar ilâve edilir.

COELENTERAT'lar, en iyi % 5 nötral formalinde muhafaza edilir (deniz formları için deniz suyu kullanılır), fakat % 70 alkolde kullanılabilir.

Boyama metodları:

a — *Bougainvillea* ve *Obelia* gibi küçük *Coelenterat*'ların, *Alcyonaria*'ların *Anthocodiae*'leri ve *Aurelia*'nın tentakülosistleri gibi organlarının yapısal ayrıtları boyandıktan sonra çok kolay görü-

lürler. Eğer % 70 alkolde saklanmışlarsa, doğruca boraks karmin içine geçirilebilir ve (30 dakikadan bir kaç saate kadar) boyanır. Boyanın fazlası % 70 alkoldeki % 1 hidroklorik asit eriğinde çıkarılır, normal % 70 alkolde yıkanır ve sonra % 90 alkol, absolü alkol, absolu alkol ve xylol karışımı (her birinde 5-10 dakika) içinden saf xylol'e geçirilir. Kanada balsamı içinde kapatılır.

b — Veyahut, numuneler ya doğrudan doğruya formalinden veya % 70 alkolden, % 50 ve % 30 alkoller yolu ile suya geçirilir ve sonra EHRlich, DELAFIELD veya MAYER'in bir haematoxylin solüsyonunda boyanır. % 30, % 50, % 70 alkollerde yıkanır (her birinde 5-10 dakika) ve fazla boya, asitli % 70 alkolde giderilir, kâfi olduğu zaman nümuneler % 70 normal alkole konur, sonra bir kaç damla kesif amonyak ilâve edilmiş % 70 alkol içinde boya maviye çevrilir. Yukarıda anlatıldığı şekilde xylol'e geçirilir ve Kanada balsamında kapatılır.

(Devamı var)