

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

PLATHELMINTHES

Fiksasyon metotları :

Bütün alelade yassı kurtlar için aynı tesbit ve boyama metotları kullanılabilir.

Canlı yassı kurt, bir lâm üzerine yerleştirilir ve bol su veya tuz solusyonuna nakledilir. Sonra, üstüne diğer bir lâm konarak, kurt dikkatle, fakat kuvvetle bastırılır (kurt küçük veya şerit şeklindeki hayvanın ön ucu olduğu halde, bir kırık lâm parçası veya hatta onu örtecek miktar camın ağırlığı bile kâfidir). Lâmi, klips kullanarak veya pamuk ipliğiyle bağlayarak sürtmekten ve sıkıştırmaktan sakınmalıdır. Bunun hepsi Bouin mayii içine daldırılır ve bir kaç saat (tercihan bir gece) bırakılır. Fazla BOUIN eriği % 70 alkolde yıkanır ve yavaşça iki lâm birbirinden ayrılır. Kurt, ekseriya lâmlardan birine yapışır. Lâmla beraber veya sadece kurt % 70 alkolde saklanır.

Boyama metotları :

a) Basit iki boya, *Plathelminthes*'lerle iyi neticeler vermektedir. Bunlardan kullanılması daha kolay olanı, numuneleri % 70 alkolden doğruca içine geçirebileceğimiz, boraks karmindir. Nu-

(*) Bu yazının birinci kısmı, T. Biologi Dergisi, 10, 30, (1960) da neşredilmiştir.

muneler, boyada 1—2 saat veya bir gece veya iyice boyanıncaya kadar bırakılır. Sonra mikroskopta kontrol edilerek, boyanın fazlası % 70 alkolün % 1 hidroklorik asit solusyonunda çıkarılır. İç organları açıkça görüldüğü zaman, hayvanlar, normal % 70 alkolde yıkanır ve % 90 alkol, absolü alkol, (yarı yarıya) absolü alkol-xylol ve xylolden geçirilir (her mayide kalacağı zaman, kurdun kalınlığına bağlıdır; büyük bir karaciğer keleşi için 30 dakika kâfidir). Kanada balsamı ile kapatılacağı zaman, ekseri lâmelin altına kurdun kalınlığında cam çubuk veya kibrit çöpünden iki destek konmalıdır.

b) Diğer bir boya, DELAFIELD ve MAYER'in haematoxylin solusyonudur. Bununla boyanacağı zaman, kurtlar, % 50, % 30 alkoller ve sudan boyaya geçirilir (her birinde, ortalama olarak, hayvanın kalınlığına göre, 20 dakika kadar tutulur). Tercihan bir gece boyada bırakılarak iyice boyanır; suda veya % 30 alkolde yıkanır ve numuneler % 50 alkolden % 70 alkole geçirilir. Boyanın fazlası, asitli %70 alkolde çıkarılır. İç organlar berrak bir şekilde görülünce, normal % 70 alkole alınır ve % 70 alkolün % 1 kesif amonyak karışımında boya maviye dönüştürülür. Bilindiği gibi xylolde geçirilir ve Kanada balsamında kapatılır.

NEMATODA

1 — Kültür metotları :

a) Canlı *Rhabditis* ve diğer toprak *Nematot*'larını elde etmek için, bir cam kavanoz nemli toprakla yarı yarıya doldurulur; 2—3 küçük çiğ et parçası ilâve edilir, buharlaşmağa mani olmak için üzeri bir cam kapakla örtülür ve oda hararetinde muhafaza edilir. Topraktaki «kistli lârva» çürüyen et usaresile beslenerek aktif hale gelir. Etin alt kısmında bol miktarda bulunan hayvanlar, bir hafta içinde erginleşirler. Kurtlar, bu şartlar altında 1—2 hafta yaşamalarına devam ederler; fakat, eğer saf kültür istenirse, yumurtalar ihtiva eden 1—2 olgun dişi hayvan ayrılır, (bakteri ihtiva eden bir damla kirli su ile) agar jeline konur (agarın sudaki % 2 eriği soğutulur ve kapalı bir kaptaki bırakılır). Bir kaç gün içinde agarın üzeri inkişaf etmekte olan yüzlerce kurtcuk ile dolar.

b) Parazit *Nematot*'ları, tabii konaklarında muhafaza etmeden kültürünü yapmak zordur. Enfekte domuz etile fareleri besleyerek *Trichinella*'nın konağı kolayca elde edilir. İnce barsağın üst kısmındaki doku arasında 2—3 gün içinde lârva eşeyssel olgunluğa erişir.

7 gün kadar sonra erkekler ölür; fakat, dişiler iki ay gibi uzun bir zaman yaşamağa devam ederler. Lârva, 8—25 gün arasında kaslara geçinceye kadar, normal olarak, kanda bulunur. Bilhassa, diyafragma, kaburgalar, nefes borusu, dil ve göz kasları enfekte edilir. Önce lârva kasın içindedir. 14 gün kadar sonra lârva kangal şeklini alır ve sonra kist içine girmeğe başlar.

2 — Fiksasyon metodu :

a) Çok mukavim kutikulaları sebebile, *Nematot*'ları tesbit etmek güçtür. En iyi fiksatif, % 70 alkolün sıcak (daima kaynayan) buharıdır. (Alkol buharının son derece parlayıcı olduğunu hatırdan çıkarmamalıdır.) % 5 formalinin buharı da kullanılabilir. Parazit kurtları, konak hayvanlarından çıkardıktan sonra tesbit etmek kabül olabilir; fakat, önceden % 0,9 sodyum kloridin sudaki eriğinde yıkanmalıdırlar. Fiksasyon için kullanılan kaplar kurdu içinde uzatıp doğrultmağa yetecek kadar geniş olmalıdır.

b) Fiksasyon mayii soğuduktan sonra, numuneler, ya % 5 gliserin ilâve edilmiş aynı taze eriyik (% 70 alkol veya % 5 formalin) veya 5 kısım gliserin, 10 kısım % 10 formalin, 85 kısım % 70 alkol karışımı içinde saklanır.

3 — Boyama metotları :

Bunlar, laktofenol eriğine(*) konur ve takriben bir gün, içinde bırakılır; seffaflaştığı mikroskopik muayene ile araştırılır. Sonra, kurtlar lâm üzerine yayılır ve erimiş gliserin jeli ilâve edilir. lâmelle kapatılarak daimî preparat yapılır. Veya laktofenolde tecrübe yapıldıktan sonra, preservatif mayii içine geri konur.

ROTİFERA

1 — Fiksasyon metodu :

Bütün *Rotifer*'ler hususî fiksasyona ihtiyaç gösterirler. Önce az bir miktar suya (10 cc. den az), damla damla eucain hydrochloride (1 gr. 10 cc % 90 alkolde, 10 cc distile su ilâvesile eritilir) hayvanların yakınına konarak bayıltılmalıdırlar. Dibe battıkları

(*) Yazıda ismi geçen tertiplerin formülleri ve yapılış tarzları bu yazıların nihayetinde verilecektir.

zaman, her cc suya bir damla osmik asit solusyonu damlatarak sür'atle karıştırılır (% 1 sulu osmik asit eriği, % 1 kloroplatinik asit ilâve edilerek kullanılır). 10 dakika sonra tesbit sıvısı, su ile değiştirilir ve kısa zaman aralarile bir çok kere suyu yenilenir. Nihayet, % 5 formalin içinde muhafaza edilir.

2 — Boyama metotları :

a) *Rotifer*'ler, 1/50000 nötral kırmızı solüsyonu ilâvesile canlıken boyanabilirler.

b) Bunun yerine, daimî preparat yapmak için, fikse edilmiş numuneler berraklaşınca kadar sulandırılmış DELAFIELD haematoxylini gibi eriyiklerden birinde veya açık pembe renk olunca kadar sulandırılmış alum karmin içinde boyanırlar. Haematoxylin'den sonra, % 90 alkolün % 1 hidroklorik asit solüsyonunda farklılaştırılır; müteakiben bir damla amonyak ilâve edilmiş % 90 alkolde mavileştirilir. Nihayet, numunelerin suyu çekilir ve Kanada balsamında monte edilirler.

BRYOZOA (POLYZOA)

1 — Fiksasyon metodu :

Bütün *Polyzoa* için, fiksasyondan evvel, narkotizasyonun yapılması tercih edilir. *Bugula* kolonileri veya *Pectinella*'nın tek zooidleri az bir miktar suyu saklarlar ve tentaküllerini açmağa müsaa-
de ederler. Buldukları suya, biraz menthol kristali konur; dokunulunca tentaküller artık hiç kontraksiyon yapamadıkları zaman, kâfi miktar ticarî formalin ilâve edilerek % 5 eriyiği meydana getirilir, hayvan öldürülür. Ya taze % 5 formalinde saklanır veya su ile yıkandıktan sonra yavaş yavaş % 30 ve % 50 alkollerden geçirilip % 70 alkolde muhafaza edilir.

2 — Boyama metotları :

a) Alkolde muhafaza edilen materyel en kolay boraks karminde boyanır. Fazla boya % 1 asitli % 70 alkolde çıkarılır, normal % 70 alkolde yıkanır ve hayvanlar, % 90 alkol, absolu alkol, absolu alkol - xylol karışımı, xylol içinden (her birinde 5—10 dakika kadar) geçirilerek Kanada balsamı ile kapatılır.

b) DELAFIELD hematoksilininde boyamak için, alkoldeki materyel, % 50, % 30 alkol serilerinden suya geçirilir ve boyanır, Sonra yıkanır, % 30, % 50, % 70 alkollere getirilir (her birinde 5—10 dakika), alkali % 70 alkolde rengi maviye çevrilir. Nihayet, % 90 alkol, absolu alk, xylolden geçirilerek Kanada balsamında monte edilir.

BRACHIOPODA

Tesbit ve saklama metodu :

Brachiopod'ların buldukları deniz suyuna yavaş yavaş en çok 1/10, % 90 alkol ilâve edilerek öldürülmesi tavsiye olunur. Kabukları kolayca açıldığı zaman bir odun yongası sokulur ve numuneler % 70 alkolde saklanır.

CHAETOGNATHA

Fiksasyon metotları :

Chaetognatha'lar tercihan BOUIN eriyiğine daldırılarak öldürülürler; buna rağmen, 1 kısım ticarî formalinin 10 kısım deniz suyuna karışımı da kullanılabilir. Ya BOUIN eriyiği veya % 5 formalin içinde saklanabilirler. Alkol kullanılmamalıdır.

Boyama metodu :

Fikse edilmiş numunedeki formalin iyice suda yıkanır ve EHRlich veya DELAFIELD hematoksilininde boyanır. % 30 alkolde yıkanır ve sonra yavaşça % 50, % 70 alkollerden geçirilir (her birinde 15—20 dakika bırakılır). Fazla boya % 70 alkolün yüzde 1 hidroklorik asit karışımında çıkarılır; yüzde 70 alkole kesif amonyak damlatılmış alkali eriyikte renk maviye çevrilir. Yüzde 90 alkol, absolu alkol, absolu alkol - xylol karışımı ve xylolden geçirilerek Kanada balsamında üzeri lamelle kapatılır.