

# BİTKİ KORUMA BÜLTENİ

Cilt : 6

Haziran - 1966

No. : 2

## NEMATOD'LARIN SÜRELİ PREPARAT İÇİN HAZIRLANMASINDA KULLANILAN GELİŞ- TİRİLMİŞ DEĞİŞİK BİR METOD

Hasan YÜKSEL<sup>1</sup>

### G İ R İ Ş

Hali hazır mevcut metodlara göre nematod'ların süreli preparatları yapıldıktan sonra bunları ancak daimi olarak muhafaza etmek mümkün olabilmektedir. Fakat bu işlerin yapılmasında her zaman için muvaffakiyet temin edilemediği gibi diğer taraftan çok uzun zamana da ihtiyaç hasıl olmaktadır.

Böcek larvalarının alkol içerisinde muhafazası gibi, nematod'ların sistematik karakterleri bozulmaksızın herhangi bir fiksatif içerisinde saklanabilmesini temin eden kolay ve çabuk bir metod henüz bulunamamıştır. Bu gün için en iyi bir fiksatif olarak kabul edilen TAF içerisinde dahi nematod'lar iki yıldan çok daha uzun bir süre muhafaza edilememektedir. (Courtney et al., 1955). Tatbik mevkiinde olan metodlardan, nematod'ları süreli preparatlar için hazırlamada kullanılanlarının en iyisi dahi tatbik edildiği zaman elde edilecek netice istikrarlı olmamakta ve materyalin sık sık buruşarak heba olmasına sebebiyet de verebilmektedir. Geri kalan diğer metodların tatbiki ise çok fazla pratik ve el hüneri istemektedir. Bilhassa bitki paraziti nematod'larından *Tylenchida* takımı içerisinde yer alan *Criconomoides*, *Pratylenchus* ve benzeri diğer cinslere bağlı türlerin süreli preparatlar için hazırlanmalarında çok defa müşküllerle karşılaşmaktadır. Bununla beraber saprofit, predatör ve serbest yaşayan nematod'ların kolleksiyon için süreli olarak hazırlanmaları kolay olmaktadır.

Esas olarak *Tylenchida* takımına mensup önemli bitki paraziti nematod'larının süreli preparatlarının hazırlanması için daha tatminkâr, pratik bir metod bulmak için 1963 yılından beri Erzurum'da laboratuvar çalışmalarına devam edilmiş ve en son olarak ta kolay, meleke istemeyen; herkes tarafından kolaylıkla tatbiki mümkün ve kısa zamanda netice istihsal edilebilen ıslah edilmiş bir metod ortaya konulmuştur.

### LİTERATÜR ÖZETİ

Süreli preparatların hazırlanmasında esas olarak çabuk ve tedrici olmak üzere iki metod tatbik edilmektedir. Bunlardan en iyisi ve emniyetli-

<sup>1</sup> Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Doçenti.

si olarak bu güne kadar kabul edileni 1-1,5 ay zarfında yavaş metodla yapılan preparatlar olmakla beraber, çabuk metodla nematodların hazırlanmaları da muhtelif araştırmacılar tarafından tavsiye edilmektedir. Bunlar arasında Franklin ve Goodey (1949) fiksatif içerisinde bulunan nematod'ları alarak, bunları lakto fenol içerisinde bir müddet ısıtıktan sonra soğuk laktofenolle preparatlarının yapılmasını tavsiye etmektedir. Baker (1953) tarafından da bu metod tadil edilmiştir. Buna göre fiksatif içerisinden alınan nematod'lar lakto fenol içerisinde biraz ısıtıldıktan sonra muhtelif yoğunlukta gliserin, fenol, laktif asit, formalin ve sudan müteşekkil beş solüsyondan geçirildikten sonra materyal bir saat içerisinde saf gliserine intikal ettirilmiştir olur.

Sürelî preparatlar tedricî dehidrasyon metodu ile yapılırsa anatomik vasıfları bozulmaksızın daha iyi berraklaştırılabilir. Yalnız bu ameliyenin icrası sırasında kabındaki buharlaşmanın çok iyi ayarlanması lâzımdır. Aksi halde biraz süratli buharlaşma dolayısı ile nematod'ların formları kolayca bozulabilir. Esasen buharlaşmanın ayarlanması da zordur. Bu metodun esası şöyledir : Fiksatifler içerisinden alınan nematod'lar küçük dehidrasyon kaplarındaki % 1.5 luk gliserine nakledilerek kabın ağzı lamelle kapatılır. 4-6 hafta içerisinde gliserinin suyu uçurularak nematod'lar yoğun gliserin içerisinde bırakılır. Bundan sonra dehidrasyon kabı desikatör içerisine nakledilerek orada üç gün kadar bekletilir ve bu suretle de nematod'lar sürelî preparat için hazırlanmış olur. Thorne (1961) tedricî dehidrasyonu içerisinde 1-1/4 gliserinli su ve nematod bulunan ağzı açık dehidrasyon kabını, kalsiyum karbonatla dolu küçük bir şişe ile birlikte muayyen hacimde bir preparasyon kabı içerisine koyduktan sonra, bu kabın ağzı kapağı ile kapatılarak, dehidrasyon kabındaki gliserinin suyu 4-6 haftada tedricî olarak kalsiyum karbonata emdirilerek nematod'ların yoğun gliserin içerisine alınabileceğini bildirmektedir. Thorne, acil durumlarda fiksatif içerisinde tesbit edilmiş nematod'ları ikiye bölerek, bunları % 1.5 luk gliserine nakledip ve bir kaç saat içerisinde gliserinin suyu da tamamen uçurularak nematod yarımlarını buruşmaksızın kesif gliserin içerisine intikal ettirmek suretile bunlardan sürelî preparat yapılabilmesinin mümkün olabileceğini beyan etmektedir. Yüksel (1966), fiksatif içerisinde tesbit edilmiş nematod'ların satırlarını, sıcak laktofenolun vücut içerisine geçmesine fırsat vermeden, sertleştirdikten sonra bunları % 1.5 luk gliserin içerisine nakledilerek 5-6 gün içerisinde sürelî preparat için hazırlanabileceğini ortaya koymuştur.

#### NEMATOD'LARIN SÜRELİ PREPARAT İÇİN HAZIRLANMASINDA KULLANILAN DEĞİŞTİRİLMİŞ METODUN ESASI

Nematod'lar öldürülerek herhangi bir fiksatif içerisinde asgari 24 saat bekletildikten sonra, veyahutta daha evvel fiksatif içerisinde tesbit edilmiş nematod'lar stereo-mikroskop altında toplama iğneleri ile içerisinde TAG denilen bir mayi bulunan küçük bir camdan mamül dehidrasyon kabına ihtiyac nisbetinde nakledilir ve kabın ağzı tamamen veya kısmen büyük bir lamelle kapatılarak su kısmı altı günde uçurularak nematod'lar yoğun mayi içerisinde bırakılmış olur. Bundan sonra kabındaki yoğunlaşmış mayinin mümkün olduğu kadarı çok ince bir damlalıklarla alınır ve bunun yerine odada

muhafaza edilen gliserin ilâve edilir. Bu suretle nematod'lar hemen hemen saf gliserin ilâve edilir. Bu suretle nematod'lar hemen hemen saf gliserin içerisine alınmış olur. Dehidrasyon kabı bu hali ile bir gün daha bekletildikten sonra desikatör içerisine nakledilerek orada nematod'lar mutlak gliserin içerisinde bırakılmış olur ve bir gün sonra da bunlardan süreli preparat yapılabilir.

TAG, nematod'ları süreli preparat hazırlamada kullandığım çok elverişli bir kombinasyondur. Bu kombinasyon triethanolamin, alkol ve gliserinden müteşekkildir. Bu kelimelerin baş harfleri alınarak solusyon kısaca TAG olarak isimlendirilmiştir.

TAG'ın terkibi (hacım olarak) :

- 1 1/4 triethanolamin,
- 30 saf alkol,
- 5 gliserin,
- 63 3/4 saf su.

Bu kombinasyonun alkol nisbeti düşük olacak olursa mahhülde bulanıklık meydana geleceğinden iyi bir netice almak mümkün olmamakta ve aynı zamanda stok solusyon kısa zamanda çökelti vererek bozulmaktadır. TAG içerisinde bulunan alkolün yüzdesi solusyonun bozulmamasını temin ettiği için çok önemlidir. Triethanolamin ise, çok hassas nematod'ların dahi buruşmaksızın yoğun gliserin içerisine alınmasını temin etmektedir. Diğer bir deyimle triethanolamin, gliserinin nematod içerisine kolaylıkla girmesini sağladığından nematod'un vücut içi yoğunluğu ile kap içerisindeki eriyiğin yoğunluğunun dengede olmasını temin eder ve neticede nematod'ların buruşmalarını önler. Bu metodu *Criconoides*, *Pratylenhus* kök ur erkekleri ve benzeri diğer *Tylenchida* takımına mensup nematod'ların süreli preparat için hazırlanmaları risksiz ve kolay olmaktadır. Bu yolla hazırlanan nematod'ların kutikular işaretleri de daha bariz olmakta ve vücut içerisinde mükemmel bir berraklığa sahip bulunmaktadır.

Bu metodun şimdiye kadar en iyi metod olarak kabul edilenlere nazaran üstünlüklerini şöyle özetlemek mümkündür :

1. Süreli preparat için hazırlanması zor nematod'lara bu metod tatbik edildiğinde herhangi bir zayıflık vermeden iyi bir sonucun elde edilebilmesi ve bilhassa kutikular işaretlerin diğer metodlarla hazırlanan nematod'larına nazaran çok daha bariz olması ve hatta taze materyale nazaran da taksonomik karakterlerinin çok daha bariz olarak görünmesi,
2. Zaman bakımından 3-5 haftalık bir müddetin tasarrufu,
3. Ameliyenin kolay olması dolayısı ile herhangi bir pratiğe, el hünarına ihtiyaç göstermemesi ; buharlaşma şiddetinin azalıp çoğalmasına karşı hassas olmaması ve hatta küçük dehidrasyon kabının ağzı tamamen açık kaldığı zaman dahi nematod'larda buruşma görüldüğünde, kaba biraz taze TAG ilâve edildiğinde bunların tekrar turgorlarını kazanmalarındır.

#### Ö Z E T

Nematod'ları süreli preparat için hazırlamada iyi sonuç veren ve aynı zamanda pratik olan değiştirilmiş bir metod bulunmuştur. Bu metodu uygulamak için, ilk önce herhangi bir fiksatifte muhafaza edilen nematod'lar-

dan yeteri kadarı, stereomikroskop altında toplama iğneleri ile içerisinde TAG mayii bulunan dehidrasyon kabına nakledilir ve bu kabın ağzı lâmel- le kısmen veya tamamen kapatılarak kap içerisindeki mayii suyu 6 gün içerisinde uçurulur. Müteakiben çok ince bir damlalıklarla kap içerisindeki yo- ğunlaşmış mayiden mümkün olduğu kadar fazlası alınarak, yerine odada muhafaza edilen gliserinden birkaç damla ilâve edilir. Bu ameliyeden son- ra dehidrasyon kabı bir gün daha kendi halinde bekletildikten sonra bir desikatöre nakledilir. Burada 1-2 gün kaldıktan sonra numuneler süreli preparat için hazır duruma gelmişlerdir.

Bu metodla bir hafta içerisinde nematod'lardan buruşmaksızın ve iyice berraklaştırılmış olarak süreli preparat yapılır. Aynı zamanda, bu şekilde tedrici metoda nazaran 3-5 hafta gibi bir zaman da tasarruf edilmiş olur.

TAG, içerisinde bulunan kimyasal maddelerin baş harflerinden meydana getirilmiş bir isimdir.

TAG'ın terkihi şöyledir (hacim olarak) :

- 1 1/4 triethanolamin,
- 30 saf alkol,
- 5 gliserin,
- 63 3/4 saf su.

#### S U M M A R Y

##### Modified Method For A Permanent Preparation of Nematodes

After killing and fixing nematodes through normal methods they are picked up with a very fine medicine dropper and transferred into a P. I. D. dish containing TAG. Then, the dish is covered partly or completely with a cover glass. This will allow water to evaporate in a six day period. After this, some of the consantrated TAG is removed by using a very fine medicine dropper from the dish. And a little glycerine is added into it. Then, dish is kept 1-2 day in the desiccator and after this process the specimens are ready for the permanent slides.

TAG contains the following (in volume) :

- 1 1/4 Triethanolamine,
- 30 Pure alcohol,
- 5 Glycerine,
- 63 3/4 Distilled water.

The most satisfactory result is obtained through this method. The cu- ticular markings are seen very nicely and gives beter clearity to the specimens. Even nematodes as *Criconomoides* supp., *Praty- lenchus* spp. and similar ones can be prepared with this method without any shrinkage.

#### LİTERATÜR

- BAKER A. D. 1953. Rapid method for mounting nematodes in glycerine. *Canad. Ent.* **85**, 2, 77-78.
- CORTNEY, J. W., P. DORORTHY and V. T. MILLER 1955. TAF, an improved fixative in nematode tech- nique, *Phytopath.* **29**, 7, 570-571.
- FRANKLIN, M. H. and GOODEY, 1949. A cotton blue lactophenol technique for mounting plant parasitic nematodes. *J. Helminth.* **23**, 3/4, 175-178.
- THORNE, G. 1961. Principles of nematology, Mc. Graw - Hill Book C. New - York.
- YÜKSEL, H. 1966. Nematod'ların daimî preparat için hazırlama metodunun tadil edilmiş şekli. *Bit. Kor. Bul.* **5** (4) 199-202.