

SERİ  
SERIE B

CİLT  
TOME XXV

SAYI  
FASCICULE II

1975

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

# ORMAN FAKÜLTESİ DERGİSİ

REVUE DE LA FACULTÉ DES SCIENCES FORESTIÈRES  
DE L'UNIVERSITÉ D'ISTANBUL



## KELEBEKLERİN EŞEY ORGAN PREPARATLARININ HAZIRLANMASI

Yazan  
Dr. Torul MOL

### I. GİRİŞ :

Kelebekler üzerinde yapılan çalışmalar, dış görünüşleri bakımından birbirlerine çok benzeyen türlerin, erkek organlarındaki farklar ile ayırt edilebildiklerini göstermektedir (EIDT D. C ve diğerleri 1966). Hatta *Amphipoea* Billb. (*Lepidoptera: Noctuidae*) cinsine ait türlerin, sadece eşey organları üzerinde yapılacak araştırmalarla birbirinden tefriki mümkün olabilmektedir (FORSTER W., Th. A. WOHLFAHRT 1971).

Ayrıca bir türe ait muhtelif yetiştirme muhiti ırkları arasında da eşey organları bakımından farklılıklar olabilir. Bütün bu sebepler yüzünden, kelebekler üzerinde çalışma yapanların kanat preparasyonu gibi, genital organların preparasyonunu da bilmeleri ve mümkün olduğu kadar preparatlarını kendilerinin hazırlamaları gerekir. Bunun başlıca faydası, araştırmacının, genital organın görmek istediği kısımlarını daha belirgin bir şekilde hazırlama imkânını bulabilmesidir.

Bugüne kadar ülkemizde kelebeklerin preparasyonu, birçok eserlerde ele alınmış bir konu ise de (ERDEM R. 1961, ŞENGÜN A., N. GÜNEYİ 1968, ÇANAKÇIOĞLU H. 1971, MOL T. 1975), bu çalışmalarda daha ziyade kelebeklerin müze materyali olarak hazırlanması veya kanatların incelenmesi bahis konusu olmuştur. ACATAY G. 1973 bu konuya değinmiş ise de kelebeklerin genital organlarının nasıl prepare edileceğini etraflı bir şekilde açıklamamıştır.

Bu sebeple literatürümüzdeki bu boşluğu kapamağa çalışmak ve diğer ülkelerde yıllarca evvel ele alınmış olan bu konuyu (CLARKE J. F. G. 1941, HARDWICK D. F. 1950) Türk entomologlarının hizmetine sunmak faydalı olacaktır.

Yayın Komisyonuna Sunulduğu Tarih : 7.6.1976

## II. MALZEME :

Cinsiyet organlarının preparasyonu yapılırken kullanılan malzeme oldukça basit ve ucuzdur. Bu malzemeyi üç kısımda toplamak mümkündür.

- A. Mekanik aletler,
- B. Optik aletler,
- C. Kimyasal maddeler.

### A. Mekanik aletler :

1. 3 adet 150 ml'lik damlalıklı şişe (Kimyasal maddeler ve su için),
2. 10 - 12 adet 10 cm<sup>3</sup>'lük deney tübü,
3. 250 ml'lik beherglas (Tüpleri ve böcek abdomenlerini kaynatmak için)
4. Bir havagazı belki veya elektrikli ocak,
5. Muhtelif kalınlıkta böcek iğneleri (2 - 5 no),
6. 1 adet 100 ml'lik şişe (Boya koymak için),
7. 1 adet 100 ml'lik şişe (Yapıştırıcı madde için),
8. 4 adet 5 ve 7 cm çapında dipli saatçi camı (Yıkama ve parçalama için),
9. 1 adet keskin kenarlı lanset iğnesi,
10. 2 adet preparasyon iğnesi,
11. 2 veya 3 adet küçük boyda (0 - 2 numara) samur fırça,
12. 2 yumuşak ve 1 kuvvetli pens,
13. Üç tarafı kanca şeklinde kıvrılmış preparasyon veya böcek iğnesi,
14. 1 adet 5 cm<sup>3</sup>'lük enjektör ve ince iğne (—27, —30 numara),
15. Ortası çukur ve düz lam ile çeşitli boyda lameller,
16. Göz ameliyatlarında kullanılan küçük uçlu makas (iris makası),
17. Bol temiz bez (Lam, fırça, saatçi camları ve diğer malzemenin temizce kurulanması için),
18. Küçük daimi etiket (Kelebeğin iğnesine takılır ve daimi olarak orada kalır),
19. Abdomenin konulduğu deney tübüne bağlı tele takılan büyük Geçici Etiket,

### B. Optik aletler :

Bir adet  $1,25 \times 10 = 12,5$  defa büyüten mikroskop büyükçe ke-

lebeklerin (20 - 30 mm kanat açıklığı olan) preparasyonu için yeterlidir. Ancak mikroskop küçük ve pek küçük kelebekler için asgari 50 veya 100 defa büyütebilecek şekilde ayar edilebilmelidir.

### C. Kimyasal maddeler :

1. % 96'lık alkol,
2. Xylol,
3. Kanada balsamı (İnceltmesi Xylol ile yapılır). Bunun yerine Euparal kullanmak daha iyi netice verir (İnceltmesi Euparal essence ile yapılır koyulaştırmak için ısıtmak yeterlidir),
4. Karanfil yağı (Fazla boyanın temizlenmesi için),
5. Mercurio - chrome % 0.5'lik çözelti (Kırmızı renktedir), Bunun yerine Chlorozol - black'ın çözeltisi de kullanılabilir (Mavi renkte boyama yapar).

### III. YÖNTEM :

Kelebeklerin eşey organlarının preparasyonunda şu hususlara dikkat etmek gerekir.

A. Kelebeğin iğnesine küçük, daimi etiket takılır,

B. Kelebeğin abdomeni alt tarafından yukarıya doğru hafifçe bastırılarak Thorax'dan kopması sağlanır,

C. Kelebeğin abdomeni, içerisinde % 10'luk KOH (Potasyum hidrokosit) bulunan deney tübü içerisine konur. Bu sırada birçok kelebeklerin preparasyonu birlikte yapılacak ise karışıklığı önlemek üzere her tübe yalnız bir abdomen konulur ve tübün ağzına takılı olan tele geçici etiket bağlanır. Bu etikete ve (A) maddesinde sözü edilen etikete şu bilgileri yazmak gerekir :

1. Beynelmillel işaretle kelebeğin dişi veya erkek olduğu,
2. Kelebeğin bilinen adı (örneğin: *Erannis defoliaria* Cl.),
3. Kelebeğin elde edildiği yere ait bilgiler (Örneğin: Bahçeköy 110 m, Meşe baltahğı),
4. Slayt numarası,
5. Slaytı hazırlayan.

Bu geçici etiket preparasyonun bundan sonraki safhalarında bir yanlışlığa meydan vermemek için abdomenin daima yanında bulundurulur.

D. İçerisinde % 10'luk KOH eriyiği ve abdomen bulunan deney tübü, içerisine su konmuş olan bir beherglası daldırılır ve kenarında bulunan tel kancanın yardımı ile beherglasın kenarına asılı olarak tutulur.

E. Beherglas elektrik ocağı veya havagazı beki üzerine konarak kaynatılır. Beherglastaki suyun kaynamaya başlamasından ortalama olarak 10 - 15 dakika sonra tüb beher glastan alınır .Ancak küçük kelebelerde bu süre daha kısa, büyük olanlarda ise biraz daha uzun olabilir. Bunda gaye, abdomenin iyice yumuşayarak üzerinde çalışılabilecek hale gelmesini ve birçok dokuların erimesini temin etmektir. En iyi yol mümarese ile bu zamanı takdir etmektir.

F. KOH içinde kaynatılan abdomen % 20'lik alkol ile dolu olan saatçi camına alınır ve mikroskop altında uçları kısa kesilmiş 2 adet samur fırça yardımı ile abdomen dorsal - ventral yönlerde yassılaştırılmaya çalışılır. Bu arada gövde üzerindeki pul ve eğer varsa kıllar itina ile fırçalanarak temizlenir. Ayrıca gövde içindeki lüzumsuz organ parçaları ve vücut ekstraktları dışarı çıkarılır. Bu sırada ince kanca vücut içerisine sokularak bazı maddelerin dışarıya daha kolaylıkla çıkarılmasına çalışılır. Abdomen üzerinde kalmış olan KOH'da bu esnada temizlenmiş olur.

G. Böylece tamamen temizlenerek yalnız vücut zarı ve genital organlardan ibaret kalmış olan abdomen artık boyanmaya hazır hale gelmiş olur.

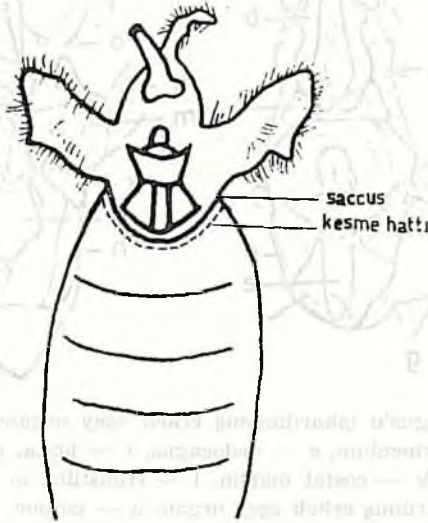
Bir başka saatçi camı içerisine % 20'lik alkol doldurularak içine 8-10 damla Chlorozol - black veya Mercurio - chrome damlatılır. Hazırlanmış olan bu boya içine konulan abdomen hafifçe renk değiştirene kadar tutulur. Çok koyu boyama, bazı kısımlarda birikmeler yapmak sureti ile detayların kaybolmasına sebep olarak slaytın tetkikini zorlaştırabilir. Bu sebeple sık sık boyadan çıkarılarak % 20'lik alkolde yıkayıp hafif mavileşme meydana gelince boyamaya son verilmelidir.

Bu noktaya kadar dişi ve erkek kelebeler arasında hazırlama tekniği yönünden bir fark mevcut değildir. Fakat bundan sonra genital organların abdomenden ayrılması her iki cinsiyette farklı şekilde yürütülür.

### 1. Erkeklerde

a. % 20'lik alkol içine alınmış olan Abdomenin 8 inci segmenti yine abdomende kalacak şekilde Saccus'tan itibaren bir preparasyon veya

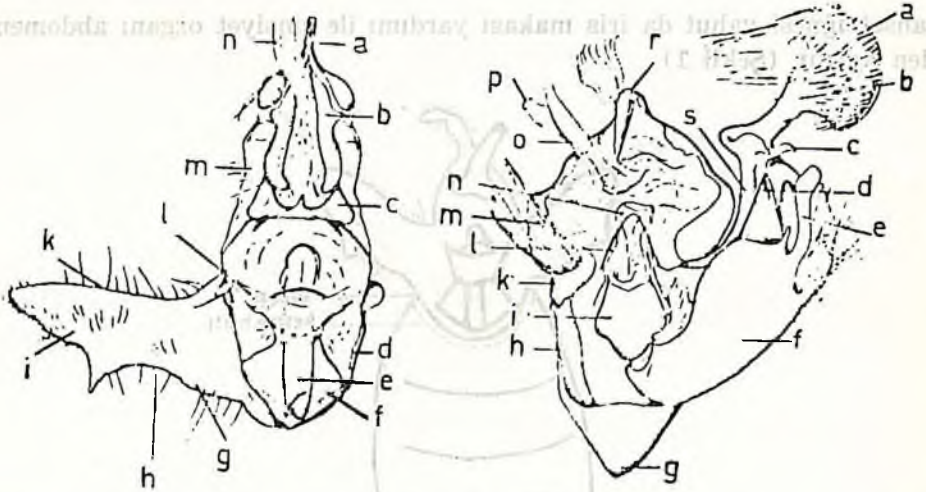
lanset iğnesi yahut da iris makası yardımı ile cinsiyet organı abdomenden ayrılır (Şekil 1).



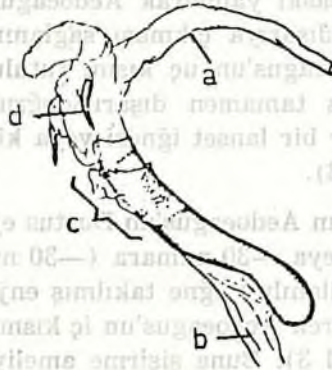
Şekil 1. Erkek eşey organının abdomenden ayrılması.

b. Aedoeagus, Valve'lerin arasından kolaylıkla çıkarılabilir. Bunu yapabilmek için bir çift penset yardımı ile Valve'ler açılır ve Aedoeagus'un dip kısmına hafifçe baskı yapılarak Aedoeagus'un uç kısmının pensetin iki ucu arasından dışarıya çıkması sağlanır. Diğer elde bulunan pensetin ucu ile de Aedoeagus'un uç kısmı tutulur ve itina ile yukarı doğru çekilir. Aedoeagus tamamen dışarı doğru çıktığında kendisini Anellus'a bağlayan zarlar bir lanset iğnesi veya küçük makas ile kesilerek ayrılır (Şekil 2 A, B).

c. Anellus'tan ayrılan Aedoeagus'un Dustus ejaculatorius'undan içeriye doğru, ucuna —27 veya —30 numara (—30 numara iğne çok küçük boyda kelekler için kullanılır) iğne takılmış enjektörle % 96'lık alkol yavaş yavaş enjekte edilerek Aedoeagus'un iç kısmı olan Vesica'nın dışarı çıkması sağlanır (Şekil 3). Buna şişirme ameliyesi denir. Bu enjekte esnasında iğnenin Ductus ejaculatorius'tan geriye doğru sıyrılarak çıkması için Ductus ejaculatorius kuvvetlice bir penset yardımı ile iki tarafından iğneye sıkıca bastırılarak tutulmalıdır. Aedoeagus iğne ile irtibatta iken % 20'lik alkolden iğne ile birlikte çıkarılarak % 96'lık alkol dolu olan bir saatçi camı içerisine alınır. Bu suretle şişirilmiş olan Aedoeagus bir iki dakika içinde, kendisine verilmiş olan şekli aynen muhafaza edebilecek hale gelmiş olur.



Şekil 2. A. Aedoeagus'u çıkarılmamış erkek eşey organı; a — uncus, b — socius, c — gnathos, d — vinculum, e — aedoeagus, f — juxta, g — sacculus, h — saccular marjın, i — valve, k — costal marjın, l — transtilla, m — tegumen, n — anal túb. B. Aedoeagus'u çıkarılmış erkek eşey organı; a — corona, b — cucullus, c — digitus, d — clasper, e — sacculus uzantısı, f — sacculus, g — saccus, h — vinculum, i — juxta, k — pedunculus, l — transtilla, m — peniculus, n — anellus, o — subscaphium, p — anal túb, r — uncus, s — costa.



Şekil 3. Vesica'sı dışarı çıkarılmış Aedoeagus; a — vesica, b — ductus ejaculatorius, c — zone, d — cornutus.

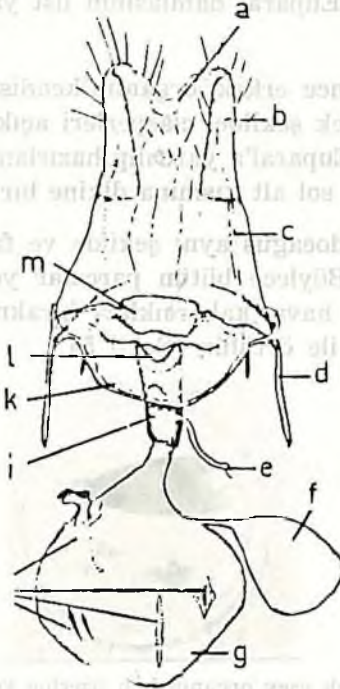
d. Şişirme ameliyesi tamamlandıktan sonra abdomen ve genital organ % 96'lık alkolün içine alınır. Ancak bu sırada alkol parçalardaki bü-

tün suyu alacağından, Clasper'lerin simetrik şekilde ve açık vaziyete bir iki dakika pensetler yardımı ile saatçi camı içinde tutularak istenilen şeklin verilmesi gerekir.

Dikkat edilecek bir diğer husus ta, içinde % 96'lık alkol bulunan saatçi camının aktarma işi biter bitmez bir cam ile kapatılmasıdır. Şayet bu iş ihmal edilecek olursa havanın nemini alacak olan alkolün derecesi düşer ve preparatlar beyaz bulanık bir görünüm alırlar.

## 2. Dişilerde

a. Boyanarak saatçi camı içindeki %20'lik alkole alınmış olan abdomen, 7 ile 8 nci segmentler arasındaki zar iris makası ile itinalı bir şekilde çepeçevre kesilerek genital organdan ayrılır. Bu sırada genital organa ve son abdomen halkasına bağlı olan birçok zarlar ve vücut içinden gelen bağlantı ve uzantılar kesilir. Ancak teşhiste işe yarayabilecek olan sklerotize olmuş kısımlar olduğu gibi bırakılır (Şekil 4).



Şekil 4. Dişi eşey organı; a — anal túb, b — ovipositor loblari, c — apophysis posterioris, d — apophysis anterioris, e — ductus seminalis, f — bursae eklentisi, g — corpus bursae, h — signa, i — ductus bursae, k — lamella antevaginalis, l — ostium bursae, m — lamella postvaginalis.



b. İyice temizlenmiş olan dişi eşey organı ve abdomen birlikte % 96'lık alkol dolu ayrı bir saatçi camına alınıp üstü yine camla örtülür.

G. Ayrı ayrı birer saatçi camı içerisinde % 96'lık alkolde bulunan genital organlar artık boyanmış ve lâm üzerine monte edilmeye hazır hale gelmiş olurlar.

1. Şayet organların lâm üzerine yerleştirilmesinde Euparal kullanılacak ise önce düz bir lâm üzerine büyükçe bir damla halinde Euparal damlatılır. Bunun yanında, ortası çukur olan esas lâma da tam çukurun içerisine gelmek üzere büyükçe bir damla Euparal damlatılır.

% 96'lık alkolden çıkarılan erkek kelebeğe ait abdomen düz lama damlatılan Euparal üzerine yatırılıp bir yüzü Euparal'a bulanır. Bundan maksat hava kabarcığı kalmasını önlemektir. Buradan alınan abdomen yavaşça ve altında yine hava kabarcığı birkılmamaya dikkat edilerek çukur lâm üzerindeki Euparal damlasının üst yarısını kaplayacak şekilde yatırılır.

Bunu müteakıp önce erkek organın kendisi, ventral kısmı yukarı (lâmel tarafına) gelecek şekilde, clasperleri açık vaziyette olarak ve yine önce düz lâmdaki Euparal'a yatırılıp hazırlandıktan sonra çukur lâm üzerindeki abdomen'in sol alt kısmına dikine bir vaziyette yerleştirilir.

Bundan sonra Aedoeagus aynı şekilde ve fakat abdomenin sağ alt kısmına yerleştirilir. Böylece bütün parçalar yerli yerine konulduktan sonra, altında büyük hava kabarcıkları bırakmamaya dikkat edilerek lâmın üzeri bir lâmel ile örtülür (Şekil 5).



Şekil 5. Erkek eşey organının lam üzerine yerleştirilmesi.

Dişi kelebeğe ait slayt 2 parçadan (Abdomen ve genital organ) yapılacağı için esas aynı olmakla beraber, çukur lâm üzerine yerleştirme

farklı bir şekil gösterir. Yani abdomen sol tarafa ve arka ucu yukarı bakacak şekilde dikine, eşey organı da yine ona paralel olarak ve sağ tarafta olmak üzere yerleştirilir (Şekil 6).



Şekil 6. Dişi eşey organının lam üzerine yerleştirilmesi.

Kelebek çok büyük olduğu takdirde bütün parçaların bir lamel altına yerleştirilmesi mümkün olmayacağından, bu gibi hallerde abdomen birinci lâmelin solunda dikine olarak ayrı bir şekilde yerleştirilir ve üzeri ikinci bir lâmel ile örtülür.

2. Slaytların hazırlanmasında yapıştırıcı madde olarak Kanada Balsamı kullanılacak ise, yapıştırma işlemi yine aynen uygulanır. Ancak % 96'lık alkolden çıkarılan parçalar önce 5 dakika kadar, içine karanfil yağı konmuş saatçi camı içinde tutulur ve bu suretle temiz bir görünüş elde edilene kadar beklenir. Bunu takiben fazla rutubeti almak için büyükçe bir saatçi camı içine konmuş olan Xylol'e daldırılır. Bundan sonra aynen Euparal ile yapılan tarzda monte işi bitirilir ve üzeri lâmel ile örtülen bu lâma kurşun kalemle yazılan geçici bir etiket bir köşesinden zambak ile yapıştırılır. Böylece hazırlama işlemi tamamlanan preparat 55°C'lik kurutma fırınında en az 3 - 4 gün kadar kurumaya bırakılır. Kuruma sırasında 1 nci veya daha sonraki günlerde slayt ara sıra kontrol edilerek yapıştırıcı madde içinde hava kabarcıkları teşekkül ettiği görülürse bunlar, lâmelin yan tarafından altına preparat iğnesi yardımı ile Xylol damlatılmak sureti ile doldurulur ve tekrar kurumaya terk edilir.

Tamamen kurumuş olan slaytta şayet yapıştırıcı madde (Euparal veya Kanada Balsamı) taşmış ise bu takdirde jilet yardımı ile kazınır ve temiz bir beze damlatılan birkaç damla Xylol veya Euparal esansı ile silinir. Bundan sonra geçici etiket çıkarıldığından yerine ve slaytın sağ kısmındaki boşluğa daimi bir etiket yapıştırılır. Bu etikete bir evvelki geçici etikette bulunan bilgiler aynen ve fakat bu kez çini mürekkebi ile okunaklı bir tarzda yazılır (Şekil 7).



Şekil 7. Hazırlanarak koleksiyona alınabilir hale gelmiş bir slayt

Büyük bir itina ile hazırlanmış olan bu slaytların muhafazalarında da dikkat edilecek bazı hususlar vardır. Slaytlar mümkün olduğu kadar toz geçirmeyecek şekilde yapılmış slayt kutularına ve dolaplara yerleştirilerek rutubetten arı yerlerde saklanmalıdırlar. Bunlara ilave edilecek en önemli husus ta slaytların daima yatay olarak konulmasıdır. Aksi takdirde yapıştırıcı madde yer çekiminin etkisiyle aşağı doğru akarak lâmenin ve altında bulunan genital organların yer değiştirmesine sebep olabilir.

#### FAYDALANILAN ESERLER

- ACATAY G. 1973. Entomoloji Tatbikatı. İstanbul Üniversitesi Yayınlarından İ.Ü. Yayın No: 1845, O.F. Yayın No: 196.
- CLARKE J.F.G., D.C. WASHINGTON 1941. The Preparation of Slides of the Genitalia of Lepidoptera. Bulletin of the Brooklyn Entomological Society Vol. XXXVI, No: 4, 311 East 4 th St., Tucson. Ariz.
- ÇANAKÇIOĞLU H. 1971. Böceklerin Toplanma - Preparasyon Muhafaza ve Teşhisi. İstanbul Üniversitesi Yayınlarından İ.Ü. Yayın No: 1651, O.F. Yayın No: 175.

