

NEMATOD'LARIN DAİMİ PREPARAT İÇİN HAZIRLANMA METODUNUN TADİL EDİLMİŞ ŞEKLİ

Hasan YÜKSEL¹

GİRİŞ

Nematod'ların daha iyi tanınması hiç şüphesiz ki onlardan yapılan kolleksiyonların zenginliğine bağlıdır. Böcekler, kuşlar, kemirgenler v.s. gibi hayvanların kolleksiyonlarını yapmak için fazla müşkülâtle karşılaşılmasına rağmen nematod'larınkinden çok çok zorluklarla karşı karşıya bulunmaktadır.

Nematod'ların sistematik karakterleri bozulmaksızın fiksatifler içerisinde devamlı olarak muhafazasında henüz muvaffak olunamamıştır. En iyi fiksatif olarak kabul edilen TAF içerisinde dahi, nematod'ların iki yıldan çok daha uzun bir süre muhafaza edilemeyeceği bildirilmektedir. (Courtney et al., 1955). Nematod'ların bahsedilen karakterlerinin bozulmaksızın muhafazaları ancak bunlardan daimi preparatlar yapılması ile mümkün olabilmektedir. Fakat bu güne kadar kolay ve emniyetli bir daimi preparat için nematod'ları hazırlama metodu henüz bulunamamıştır. *Mononchus*, *Dorilaimus*, *Xiphinema* v.s. gibi cinslere bağlı bazı nematod türlerinin daimi preparat için hazırlanmaları çok kolaydır. Bunlar buruşma, büzülme ve çökme gibi bozukluklar göstermeksizin bir hafta gibi kısa sayılabilecek bir süre içerisinde, bu maksat için hazırlanabilirler. Fakat bitki paraziti nematod'larından çoğu ve bilhassa *Tylenchida* takımına mensup olanlar, *Pratylenchus*, *ditylenchus*, *Criconomoides*, *Helicotylenchus*, dimorfismus gösteren nematod'ların erkek ve larvaları v.s. gibi bir çok cinslere bağlı türlerin daimi preparat için hazırlanabilmeleri güç olmaktadır.

Bilhassa çeşitli iklim bölgelerinde mevcut metod'lardan istifade edilebilme dereceleri de çok değişik olabilir. Erzurum gibi rakımı yüksek ve buna paralel olarak ta buharlaşmanın fazla olduğu yerlerde bilhassa neticenin daha az tatmin edici olduğu görülmektedir. Bu sebeple daha pratik ve daha tatminkâr bir neticenin istihsal edilebilmesi için tarafımdan çalışmalar yapılmış ve oldukça tatminkâr bir sonuç elde edilebilmiştir.

Daimi preparat hazırlanmasında genel olarak çabuk ve yavaş olmak üzere iki metod kullanılmaktadır. Bunlardan en iyisi uzun zamanda, yavaş metodla yapılan preparatlar olmakla beraber, çabuk metodla nematod'ların hazırlanmaları muhtelif araştırmacılar tarafından tavsiye edilmektedir. Bun-

¹ Erzurum Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Doçenti

lar arasında Franklin ve Goodey (1949) nematod'ları öldürüp fiksatif içerisinde 24 saat beklettikten sonra cotton mavisi ilâve edilmiş Lakto-fenolü duman çıkarıncaya kadar ısıtılmasını ve bu anda ısıtmaya son verilerek hemen bunun içerisinde nematod'ların ilâve edilmesini ve 1-2 dakika bekletildikten sonra alınarak soğuk laktofenol içerisinde preparatlarının yapılmasını tavsiye etmektedir. Baker (1953) tarafından bu metod şu şekilde tadil edilmiştir. Nematodlar malûm metodlarla öldürülüp tesbit edildikten sonra cotton mavisi ve lakto-fenol içerisinde ısıtılarak boyanır. Bundan sonra nematod'lar muhtelif yoğunluklardaki gliserin fenol, laktik asit, formalin ve saf sudan müteşekkil beş solusyondan geçirilerek tahminen bir saat içerisinde materyal saf gliserin içerisine nakledilmiş olur.

Thorne (1961) nematod'ları ikiye bölmek suretile 2-4 saatte daimi preparatın yapılabilmesini beyan etmektedir. Buna göre nematod'lar ilk defa öldürülür ve üzerlerine herhangi bir fiksatif ilâve edilerek ısıtılır, müteakiben plastik bir kap üzerinde fiksatif içerisinde nematod'lar ikiye bölünür. Bu şekilde parçalanmış olan nematod'lar % 15 gliserin içerisine nakledilir ve bu kap ağzı açık olmak üzere güneşe veya sıcak bir yere konur. Birkaç saat içerisinde gliserinin suyu bu şekilde uçurularak nematod'lar kesif gliserin içerisinde bırakılmış olur. Fazla sayıda nematod kesilerek bir araya konulmadığı takdirde, nematod'ların kesilme yeri ve zaviyelerinden fertler teşhis edilebileceğinden, kesilmemiş nematod'larda olduğu gibi teşhis yapmak imkânı sağlanabilir.

Daimi preparat yavaş, yani tedrici dehidrasyon metodu ile yapılırsa bazı anatomik vasıfları bozulmaksızın nematod'lar daha iyi berraklaştırılabilir. Yalnız bu ameliyenin icrası sırasında kaptaki buharlaşmanın iyi ayarlanması lâzımdır. Aksi halde biraz sür'atlı buharlaşma dolayısı ile nematod'ların formları kolayca bozulabilir. Esasen buharlaşmanın ayarlanması da çok zordur. Bu metodun esası şöyledir. Usulü veçhile öldürülen nematod'lar, içerisinde TAF veya formalin gibi fiksatifler bulunan küçük dehidrasyon kabına nakledilerek üzeri lamelle kapatılır ve bu halde 24 saat bekletilir. Nematod'lar bu şekilde biraz sertleştirildikten sonra ince bir damlalıkla fiksatifi alınır ve içerisine % 15 luk gliserin ilâve edilerek kabın ağzı lamelle kapatılır. 4-6 hafta içerisinde suyu uçurularak nematod'lar yoğun gliserin içerisinde bırakılmış olur. Bundan sonra dehidrasyon kabı desikatör içerisinde nakledilerek orada iki gün kadar bekletilir ve bu suretle de nematodlar daimi preparat için hazırlanmış olur.

Nematod'ları Daimi Preparat İçin Hazırlama Metodunun Tadil Edilmiş Şekli :

Normal şekilde öldürülerek 24 saat herhangi bir fiksatif içerisinde bekletilen nematod'lar, bu müddetin hitamında sirakus kabına dökülerek daimi preparat için hazırlanmak istenilenler stereo mikroskop altında çok ince bir damlalıkla buradan alınır. Diğer taraftan laktofenol duman verme başlangıcına kadar ısıtılır ve bu anda ısıtmaya son verilerek kap bir dakika kadar bekletilerek sıcaklığı biraz düşürülür. Bundan sonra damlalıktaki nematod'lar aniden sıcak lakto-fenol içerisine dökülür ve bu halde 10-15 saniye kadar bekletildikten sonra hemen içerisine % 10 luk alkol dökülerek soğutulur. Bu ameliyeyi müteakiben kaptaki nematod'lar ince damla-

hıkla toplanmak suretile ile, içerisinde % 10 alkol bulunan diğer bir sirakus kabına nakledilerek nematodların üzerinde kalmış olan lakto-fenol bakiyesi burada tamamile yıkanır. Nematodlar buradan hususi nematod toplama iğnesi ile teker teker alınarak, içerisinde % 1,5 luk gliserin bulunan kiçük dehidrasyon kaplarına nakledilir. Bundan sonra kabın ağzı büyük lamelle, kap içerisinde bulunan % 1,5 luk gliserinin suyunun 3-4 gün içerisinde uça- cak şekilde kısmen kapatılır. Desikatör içerisinde kalması icap eden bir günlük müddet dâhil olmak üzere, bu metod'la nematodlar 5-6 gün içeri- sinde daimi preparat için hazırlanabilirler.

Burada dikkat edilecek hususlardan birisi, lakto-fenolde nematod'ların ameliyeler esnasında fazla kalmamasına, diğeri de lakto-fenolün ısıtılma şekline önem verilmesidir.

Nematod'lar sıcak lakto-fenol içerisinde çok kısa bir müddet bırakılıp vücutlarına nüfuz etmeden vasattan alındıklarından ve bu suretle yalnız nematod'ların dışı kimyasal madde ile temasa getirilerek yüzleri sertleşti- rildiğinden, kısa zamanda büzülmeden ve buruşmadan gliserin içerisinde preparatı yapılabilecek duruma getirilebilmektedir.

Bu metodun lakto-fenol metoduna nazaran üstünlüğü nematod'ların bazı taksonomik yapılarının lakto-fenolden zarar görmeden hazırlanabilmesi ve tedrici metottan ise, nematod'ların hemen hemen hepsinin buruşmadan ve 30-40 gün yerine 5-6 günde daimi preparat için hazırlanabilmesidir.

SUMMARY

MODIFIED METHOD FOR A PERMANENT PREPERATION OF NEMATODES

Preparation of a permanent microscopic slide is revised in the following way.

1. After killing and fixing nematodes through normal methods they are picked up with a very fine medicine dropper.
2. Lactophenol within watch glass is held over a alcohol flame and heated until started to fume.
3. After this lactophenol is allowed to cool for about one minute.
4. The whole nematodes is then put into the lactophenol from the medicine dropper. And kept there for 10-15 seconds.
5. Following this 10% alcohol is added to the lactofenol. Again through the same medicine dropper the nematodes are picked up and transfered into a syrachus dish containing 10% alcohol.
6. Drop some 1,5% glycerin into a pland idustry type dish and place the specimens from the syrachus dish into it.
7. Than fill this P.I.T. dish with 1,5% glycerin but cover it partly with a cover slip. This will allow water evaporate in a 3-4 day period.

LİTERATÜR

- BAKER A. D. 1953. Rapid method for mounting nematodes in glycerine Canad. Ent. 85, 2, 77-78.
- COURTNEY, J. W., P. DORORTHY and V. T. MILLER 1955. TAF, an improved fixative in nematode technique; Phytopath. 39; 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.
- THORNÉ G. 1961. Principles of nematology, Mc Graw-Hill Book C. New York.