



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü



**İPEK BÖCEĞİ *BOMBYX MORI*'DE FAT BODY  
HÜCRELERİNİN MORFOLOJİK VE  
HİSTOLOJİK OLARAK GÖSTERİLMESİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

Asiye PAK

Biyoloji Anabilim Dalı

İzmir  
2020



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü

**İPEK BÖCEĞİ *BOMBYX MORI*'DE FAT BODY  
HÜCRELERİNİN MORFOLOJİK VE  
HİSTOLOJİK OLARAK GÖSTERİLMESİ**

Asiye PAK

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Gamze Turgay İZZETOĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı  
Biyoloji Bölümü Yüksek Lisans Programı

İzmir  
2020





Asiye PAK tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “**İpek Böceği *Bombyx mori***’de Fat Body Hücrelerinin Morfolojik ve Histolojik Olarak Gösterilmesi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve **10 / 02 / 2020** tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:**

**İmza**

**Jüri Başkanı** : Dr. Öğr. Üyesi Gamze TURGAY İZZETOĞLU  
**Raportör Üye** : Doç. Dr. N. Ebru GÖNCÜ  
**Üye** : Prof. Dr. Erdal BALCAN

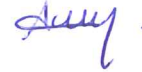




**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ****ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI**

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “İpek Böceği *Bombyx mori*'de Fat Body Hücrelerinin Morfolojik ve Histolojik Olarak Gösterilmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

10 / 02 / 2020



Asiye PAK



**ÖZET****İPEK BÖCEĞİ *BOMBYX MORI*'DE FAT BODY HÜCRELERİNİN MORFOLOJİK VE HİSTOLOJİK OLARAK GÖSTERİLMESİ**

PAK, Asiye

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Gamze TURGAY İZZETOĞLU

Şubat 2020, 69 sayfa

Fat body, embriyogenez sırasında mezodermden orijinlenir. Bir ya da iki hücre kalınlığındaki şeritlerden veya küçük loplardan oluşur ve böceklerin tüm yaşam evreleri boyunca bulunmaktadır. Fat body birçok metabolik ve depolama fonksiyonlarına sahip olması nedeniyle omurgalıların yağ dokusu ve karaciğerine analogtur. Ayrıca, immün, endokrin ve detoksifikasyon sürecinde önemli rol oynar. Bu hayati öneme sahip fonksiyonları gerçekleştiren fat bodynin temel hücreleri trofositlerdir. Ürositler, misetositler, kromatositler ve hemoglobin hücreleri trofositlerin farklılaşmasıyla oluşur. Bunlar çoğu böcek için önemli fonksiyonlardan sorumludur. Bilimsel araştırmalar için model organizma ve ticari öneme sahip olan *Bombyx mori*'nin postembriyonik gelişimine bağlı olarak fat body yapısı, hücreleri ve bu hücrelerin depoladığı molekülleri histolojik, histokimyasal ve ince yapısal olarak ilk defa tek bir çalışma içinde ele alınmıştır. Yapıya özgü fiksatifler ve histolojik/histokimyasal boyalar kullanılarak belirlenen fat body morfolojisi ve depo molekülleri yoğunluğundaki farklılıklar, *B. mori*'nin larva, pupa ve ergin evresi boyunca görülmüştür. Fat body yapısının ve trofosit içeriğinin iyi bilinmesi ile gelecekteki obezite ve diyabetin araştırılmaları için model doku olarak kullanılmasına teşvik edici niteliktedir.

**Anahtar kelimeler:** *Bombyx mori*, fat body, histokimya, ince yapı



**ABSTRACT**

**MORPHOLOGICAL AND HISTOLOGICAL  
DEMONSTRATION OF FAT BODY CELLS IN SILKWORM  
BOMBYX MORI**

PAK, Asiye

MSc in Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Gamze TURGAY İZZETOĞLU

February 2020, 69 pages

Fat body is originated from mesoderm during embriyogenesis. It consist of sheets, only one or two cells thick or small lobes and exist through the life stages in insects. Fat body is analog to vertebrate adipose tissue and liver because, it has multiple metabolic and storage function. Moreover, it plays major role in immune, endocrine and detoxification process. Main cells of fat body are trophocytes that accomplish these vital function. Urocytes, mycetocytes, chromatocytes and hemoglobin cells are differantiated from trophocytes. They are also responsible important function for many insects. For the first time in this research, fat body structure, cells and molecules are stored in these cells that shown histologically, histochemically and ultra structurally, depending on postembryonic development of *Bombyx mori* which is a model organism for scientific researches and has commercial importance. Differences in the fat body morphology and storage molecules density are determined using tissue-spesific fixatives and histological/histochemical stains and observed through larva, pupa and adult stage of *B. mori*. It is encouraging study for using fat body as model tissue for future obesity and diabetes research with fully known of fat boy structure and trophocyte content.

**Keywords:** *Bombyx mori*, fat body, histochemistry, ultrastructure





## ÖNSÖZ

Tez çalışma konumu belirlemeden önce literatür araştırmalarım sırasında böcek yaşamı için çok önemli bir doku olan fat bodynin, bilim dünyasında model organizma olarak kullanılan *Bombyx mori*'de ayrıntılı olarak incelenmediğini görerek, bu konuda çalışmaya karar verdik. Histolojik preparasyon için bir önceki yıl yaptığımız denemelerimiz sırasında total olarak çeşitli solüsyonlarla tespit edilmeye çalışılan larval instarın sonundaki, pupal ve ergin evredeki böceklerde fiksasyon açısından zorluklar çıktığını gördük. Bu nedenle daha iyi bir penetrasyon için böcekleri fiksatifte bir gece beklettikten sonra, belirlediğimiz bölgelerden 3'e bölerek fiksatifte bekletmeyi uygun gördük. Yoğun geöen laboratuvar çalışmalarımız sırasında histolojik ve çeşitli histokimyasal boyamalar yaptık. Fat bodyde depolanan karbonhidratları belirlemek için alsiyan mavisi-PAS ve Best karmin boyası, proteinleri belirlemek için merkürük bromfenol mavisi, yağları belirlemek için Sudan siyahı B ile oil red O ve ürik asitleri belirlemek için gümüş nitrat boyalarını uyguladık. Bunlardan alsiyan mavisi-PAS'ı Best karmine göre daha detaylı bir inceleme ortamı sunmasından dolayı tercih ettik. Sudan siyahı B, Lillie Nil mavisi ve oil red O boya prosedürlerini ise defalarca denememize rağmen yağ damlacıklarının belirgin bir şekilde pozitif reaksiyon göstermemesinden dolayı bu boyaları çalışmamıza dâhil edemedik. Yağ damlacıklarını, yaptığımız diğer boyalarda negatif reaksiyon göstermesiyle iöi boş vakuoller şeklinde tespit ettik.

Sonuç olarak, denemelerimiz sırasında karşılaştığımız bir takım aksilikler olsa da imkanlarımız dahilinde farklı çözüm yolları geliştirerek amaçladığımız sonuca ulaştık. İçinde bilimsel merak taşıyan herkesin bütün hedeflerine ulaşmasını dilerim.

İZMİR

10 / 02 / 2020

Asiye PAK

**İÇİNDEKİLER**

	<u>sayfa</u>
KABUL ONAY SAYFASI.....	iii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI .....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
İÇİNDEKİLER.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
TABLolar DİZİNİ .....	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xx
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	11
3.1. İpek Böceği Kültür Laboratuvarının Hazırlanması.....	11
3.2. İpek Böceklerinin Yetiştirilmesi .....	11
3.3. Morfolojik İnceleme.....	12
3.4. Histolojik ve Sitolojik İnceleme.....	12
4. BULGULAR .....	19
4.1. Morfolojik Bulgular .....	19

4.2. Histolojik Bulgular .....	19
4.3 Makromoleküler Bulgular .....	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	51
KAYNAKLAR DİZİNİ .....	58
TEŞEKKÜR .....	66
ÖZGEÇMİŞ .....	68



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. <i>Bombyx mori</i> 'nin yaşam döngüsü .....	4
4.1 <i>Bombyx mori</i> 'nin fat body yapısının stereo mikroskop ile gösterilmesi .....	20
4.2 <i>Bombyx mori</i> larvasının 1. instar 0. günündeki fat body yapısının Mayer hematoxilen-eozin ile boyanmış genel histolojik yapısı .....	21
4.3 <i>B. mori</i> 'nin 1. instar 0. günündeki fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi.....	21
4.4 <i>B. mori</i> 'nin 5. instar 0. gününün toraks bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi.....	22
4.5 <i>B. mori</i> 'nin 5. instar 0. gününün abdomen başı bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi.....	23
4.6 <i>B. mori</i> 'nin 5. instar 0. gününün abdomen sonu bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi.....	23
4.7 <i>B. mori</i> 'nin 5. instar 0. gününe ait fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi.....	24
4.8 <i>B. mori</i> 'nin 5. instar 4. gününün toraks bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi.....	24
4.9 <i>B. mori</i> 'nin 5. instar 4. gününün abdomen başı bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi.....	25
4.10 <i>B. mori</i> 'nin 5. instar 4. gününün abdomen sonu bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi.....	25
4.11 <i>B. mori</i> 'nin 5. instar 4. gününe ait fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi.....	26

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

- 4.12 *B. mori*'nin 5. instar 8. gününün toraks bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi.....27
- 4.13 *B. mori*'nin 5. instar 8. gününün abdomen başı bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi.....27
- 4.14 *B. mori*'nin 5. instar 8. gününün abdomen sonu bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi.....28
- 4.15 *B. mori*'nin 5. instar 8. gününe ait fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi.....28
- 4.16 *B. mori*'nin prepupasının toraks bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi .....29
- 4.17 *B. mori*'nin prepupasının abdomen başı bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi.....30
- 4.18 *B. mori*'nin prepupasının abdomen sonu bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi.....30
- 4.19 *B. mori*'nin prepupasına ait fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi .....31
- 4.20 *B. mori* pupası 0. gününün toraks bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi .....31
- 4.21 *B. mori* pupası 0. gününün abdomen başı bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi.....32
- 4.22 *B. mori* pupası 0. gününün abdomen sonu bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi.....32
- 4.23 *B. mori* pupası 0. gününe ait fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi .....33

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

- 4.24 *B. mori* pupası 0. gününde abdomen başı bölgesindeki periferal (PF) ve perivisseral (PV) fat bodylerin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi. .... 34
- 4.25 *B. mori* pupası 10. gününün abdomen başı bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi..... 35
- 4.26 *B. mori* pupası 10. gününün abdomen sonu bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi..... 35
- 4.27 *B. mori* pupası 10. gününe ait fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi ..... 36
- 4.28 *B. mori* ergin erkeğinin abdomen başı bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi..... 36
- 4.29 *B. mori* ergin erkeğinin abdomen sonu bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi..... 37
- 4.30 *B. mori* ergin erkeğine ait fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi ..... 37
- 4.31 *B. mori*'nin farklı evrelerindeki önositlerin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi ..... 38
- 4.32 *B. mori*'nin trofositlerinde depolanmaya başlayan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi ..... 39
- 4.33 *B. mori* larvası 5. instar 0. gününe ait seçilen bölgelerdeki trofositlerde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi ..... 40
- 4.34 *B. mori* larvası 5. instar 4. gününe ait seçilen bölgelerdeki trofositlerde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi ..... 41

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

- 4.35 *B. mori* larvası 5. instar 8. gününe ait seçilen bölgelerdeki trofositlerde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi .....42
- 4.36 *B. mori* larvası 5. instar 8. güne ait trofositlerde biriken yağ damlacıklarının toluidin mavisi ile gösterilmesi .....42
- 4.37 *B. mori* larvası 5. instar 8. güne ait trofositlerin ince yapısı ....43
- 4.38 *B. mori* prepupasının seçilen bölgelerdeki PF fat body hücrelerinde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi .....44
- 4.39 *B. mori* prepupasının seçilen bölgelerdeki PV fat body hücrelerinde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi .....45
- 4.40 *B. mori* pupası 0. gününde seçilen bölgelerdeki PF fat body hücrelerinde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi .....46
- 4.41 *B. mori* pupası 0. gününde seçilen bölgelerdeki PV fat body hücrelerinde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi .....46
- 4.42 *B. mori* pupası 0. güne ait trofositlerin toluidin mavisi ile gösterilmesi .....47
- 4.43 *B. mori* pupası 0. güne ait trofositlerin ince yapısı .....43
- 4.44 *B. mori* pupası 10. gününde seçilen bölgelerdeki fat body hücrelerinde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi .....48

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

- 4.45 *B. mori* ergin erkeğinin abdomen başı ve abdomen sonu bölgelerindeki trofositlerde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi.....49
- 4.46 *B. mori* ergin erkeğinin trofositlerinin toluidin mavisi ile gösterilmesi .....49
- 4.47 *B. mori* ergin erkeğinin trofositlerinin ince yapısı .....49
- 4.48 *B. mori*'nin gelişim evrelerine bağlı olarak yağ damlacıklarının sayısındaki değişimler .....50
- 4.49 *B. mori*'nin gelişim evrelerine bağlı olarak yağ damlacıklarının çapındaki değişimler .....50



**TABLolar DİZİNİ**

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 <i>Bombyx mori</i> 'nin sistematikteki yeri.....	2
3.1 Örneklemelerin yapıldığı evre ve günler.....	12
3.2 Histolojik ve sitolojik preparasyon için kullanılan evre ve yöntemler.....	18



**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
<i>HDL</i>	Yüksek yoğunluklu lipoprotein (High Density Lipoprotein)
<i>H-E</i>	Hematoksilen-Eozin
<i>LDL</i>	Düşük yoğunluklu lipoprotein (Low Density Lipoprotein)
<i>LSP</i>	Larval serum proteini
<i>PAS</i>	Periyodik Asit Schiff
<i>PF</i>	Periferel
<i>PV</i>	Perivisseral

## 1. GİRİŞ

Embriyogenez sırasında mezodermden türevlenerek oluşan ve böcek yaşamı boyunca vücut boşluklarını kaplayan fat body tek ya da birkaç hücre sırasından meydana gelen tabakalar halinde bulunur. Fat body yoğun metabolik ve depolama fonksiyonlarına sahip olması nedeniyle omurgalıların yağ dokusu ve karaciğerine analog olarak görülür. Sinir dokuları, gonadlar, kas sistemi ile özellikle de trakeal sistemler, malpighi tübülleri ve hemolenf gibi hayati dokularla yakından ilişkili olan fat body immün ve endokrin sistemde, detoksifikasyon sürecinde rol oynar. Bu önemli görevleri yerine getiren temel fat body hücreleri trofositlerdir. Trofositler, adipositler olarak da adlandırılmaktadır. Memeli adipoz dokusunda tek tip olan adipositler, böceklerin fat bodysinde farklı hücre tipleri bulunmaktadır. Bu sebeple böcek fat body hücreleri için kullanılan adiposit isimlendirmesinin yanlış olduğu düşünülmektedir. Fat body hücresi olan trofositlerin farklılaşmasıyla oluşan ürosit, misetosit, kromatosit ve hemoglobin hücreleri de çoğu böcek için önemli görevleri gerçekleştirmek üzere özelleşmiş hücrelerdir.

Holometabol böceklerde larval-pupal metamorfoz sırasında, ayrıca ergin evrede uçuş, üreme gibi fonksiyonlar için kullanılan enerji böceklerin fat bodysinde depolanan makromoleküllerin metabolize olması sonucunda elde edilmektedir. Fat body hücreleri bu süreçte, morfolojik, histolojik, biyokimyasal ve organizasyon açısından belirgin değişikliklere uğramaktadır. Holometabol bir böcek olan *Bombyx mori*'de fat body hücreleri amaca özgü farklı fiksatifler kullanılarak karbonhidrat, protein ve ürik asit granülleri tespit edilmiş, çeşitli histolojik ve histokimyasal teknikler ile boyanmıştır. Bu yüksek lisans çalışmasında *B. mori* fat bodysinin postembriyonik gelişim evrelerine bağlı olarak araştırılıp ortaya konulması ve bu hücrelerin içerdiği karbonhidrat, protein ve yağ moleküllerinin histokimyasal olarak belirlenmesini hedef alınmıştır. Fat body yapısının ve hücre içeriğinin iyi bilinmesinin gelecekteki obezite ve diyabet araştırmaları için model doku olarak kullanılmasını teşvik edici olduğu düşünülmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

Böcekler günümüzdeki dikkat çekici çeşitliliğini oluşturmak için dünyada 400 milyon yıldan fazla süredir (Silüryen döneminden beri) yaşamaktadır. Yaklaşık 323-299 milyon yıl öncesinden itibaren (Geç Karbonifer) karadaki en baskın hayvan topluluğu olmaktadır. Hayvanlar âleminin %75'ini oluşturan en büyük canlı grubu olarak bilinen böceklerin 3 milyon türü olduğu ve büyük bir kısmının hâlâ tanımlanmadığı düşünülmektedir (Locke and Smith, 1980; Resh and Carde, 2003; Footitt and Adler, 2018).

150.000'den fazla türe sahip olan Lepidoptera, Coleoptera'dan sonra en büyük ikinci hayvan takımıdır. Kuzey Amerika'dan 11.300, Avustralya'dan 10.000 ve İngiltere'den 2.500 olmak üzere yaklaşık 200.000 tür tanımlanmıştır. Büyük ihtimalle omurgasızlar içinde en çok çalışılan grup Lepidoptera'dır. Böcekler arasında en bilinen ve kolayca tanınan türler olan güveleri ve kelebekleri içermektedir. Özellikle kelebekler çeşitli kanat desenleriyle hem profesyonel araştırmacıların hem de amatör entomologların dikkatlerini çekmiştir (Resh and Carde, 2003; Gillot, 2005; Goldsmith and Marec, 2010).

Lepidoptera'nın tanımlanmış 4 subordosundan biri olup %99'unu içeren Glossata birkaç infraordoya ayrılmaktadır. Glossata alt takımı içinde son derece büyük bir infraordo olan Heteroneura, türlerin yaklaşık %98'ini kapsayan Ditrysia serisini içermektedir. Ditrysia serisi, bu tezin çalışma materyali olan *Bombyx mori*'yi içeren Bombycoidea süper ailesiyle birlikte toplamda 29 süper aileden oluşmaktadır (Tablo 2.1) (Gillot, 2005).

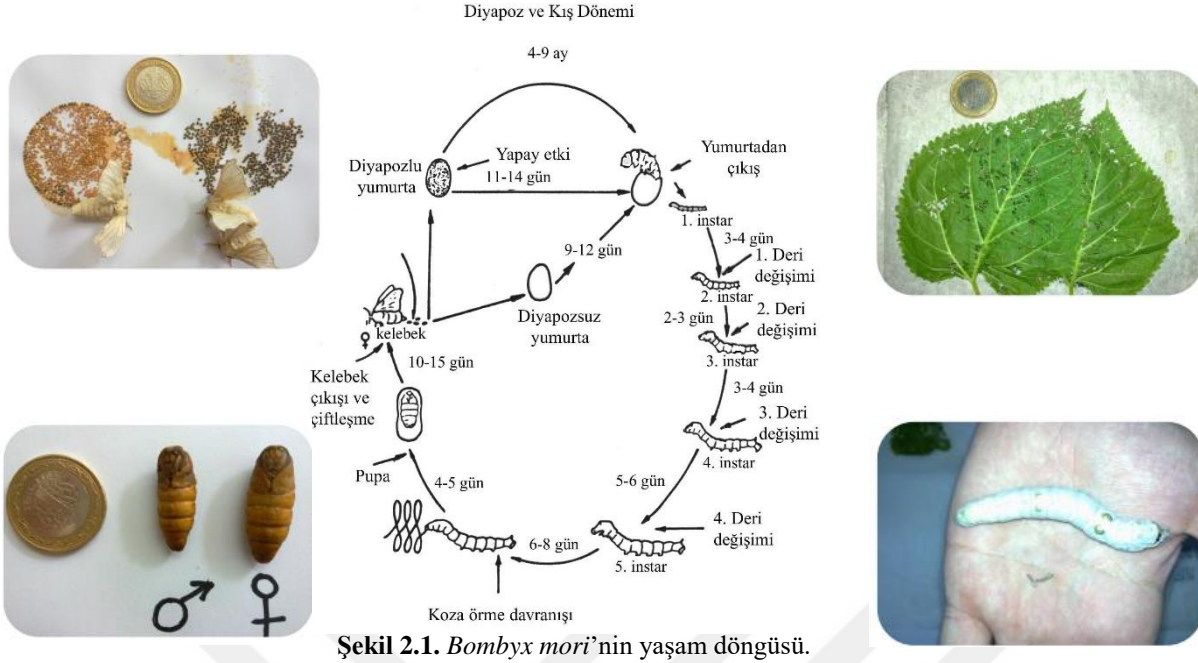
**Tablo 2.1.** *Bombyx mori*'nin sistematikteki yeri (Gillot, 2005; Singh, 2007).

Phylum:	Arthropoda
Class:	Insecta
Sub class:	Pterygota
Divisio:	Endopterygota
Ordo:	Lepidoptera
Subordo:	Glossata
Super family:	Bombycoidea
Family:	Bombycidae
Genus:	<i>Bombyx</i>
Species:	<i>mori</i> (L)

Lepidopterler içinde en çok çalışılan böceklerden olan ipek böceği *Bombyx mori*'nin dünyadaki ekonomik değeri oldukça yüksektir. Uzun yıllar boyunca seri kültürü yapılmakta ve biyolojik araştırmalar için model organizma olarak kullanılmaktadır. *Drosophila melanogaster* ile birlikte bilimsel alandaki araştırmaların ilerlemesine katkı sağlamaktadır (Resh and Carde, 2003). Ayrıca ipek böceği *Bombyx mori*'nin kültürü yapılarak elde edilen kozalardan ham ipek üretimi Çin'de yüzyıllar boyunca devam etmekte, Asya ile Avrupa ülkelerinin endüstrisinin temeli olmaktadır (Capinera, 2008). İpeğin kimyasal yapısı ve içerdiği çeşitli amino asitler sayesinde gıda ve kozmetik endüstrisinde, biyomedikal, tıp ve eczacılık alanlarında, otomotiv ve inşaat sektöründe kullanımları dikkat çekmektedir (Reddy, 2009). İpekçilik faaliyetleri sırasında kozanın içindeki pupa, yan ürün olarak kabul edilip, çoğunlukla hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. Pupalar, Hindistan ve Çin'de domuzlara, tavuklara, sığırcılara ve balıklara verilmektedir (Capinera, 2008).

Diğer lepidopterler gibi holometabol olan ipek böcekleri yumurta, larva, pupa ve ergin evreleri olmak üzere 4 farklı gelişim aşamasından geçmektedir (Şekil 2.1). Yaşam döngüleri 6-8 hafta sürmekle birlikte bu süre irksal özelliklerine ve iklim koşullarına göre değişebilmektedir (Singh, 2007; Susithra, 2014). Çiftleşmeden kısa süre sonra bırakılan açık sarı rengindeki yumurtalar zamanla koyu gri rengini almaktadır (Parlak, 2001; Susithra, 2014). Yaklaşık 2000 adet yumurtanın toplam ağırlığı 1 gramdır. 1-1.3 mm uzunluğunda ve 0.9-1.2 mm genişliğinde olan yumurta 10 günlük inkübasyondan sonra çatlamakta ve içinden siyah renkli 3mm uzunluğunda larva çıkmaktadır (Singh, 2007; Susithra, 2014). Yumurtadan çıkar çıkmaz dut yaprağı ile beslenmeye başlayan larvaların boyları 30 gün içinde 8 cm'e ulaşırken, ağırlıkları da 10.000 kat artmaktadır (Parlak, 2001).

Larval evre, derinin 4 defa değiştirildiği 5 instardan oluşmaktadır. İnstar başında hızla beslenmeyi takiben ağırlıkta da bir artış görülmektedir. Larvalar beslenme fazında kritik ağırlığa ulaştığında deri değiştirme fazına girerek beslenmeyi kesmektedir. 24-48 saat sonunda oluşturulan yeni deri ile eski derinin altından sıyrılarak çıkmaktadır. Larvalar bu deri değişim evreleri arasında beslenmeye devam etmektedir (Parlak, 2001).



Her deri değişimi sırasında boyutları büyüyen larvalar genel olarak baş, toraks ve abdomen olmak üzere 3 ana kısımdan ve 13 segmentten oluşmaktadır. Bunlar; başta 1 segment, toraksta 3 segment (her biri birer çift gerçek bacak taşıyan protoraks, mezotoraks ve metatoraks olmak üzere), abdomende ise 9 segment şeklindedir. Abdomenin 3, 4, 5 ve 6. segmentleri eklemsiz kas çıkıntıları olan birer çift abdominal bacak taşımaktadır (Singh, 2007).

Son instara geçtikten 7-8 gün sonra fizyolojik olarak koza örmeye hazır hale gelen ipek böceği larvası beslenmesini durdurarak, sindirim kanalını boşalttıktan sonra koza örmek için kendine uygun bir yer bulup, 48-72 saat koza örmeye devam eder. Kozanın henüz yumuşak olduğu bu evrede böcekler hala hareketli larval formunu korumaktadır. Yaklaşık 72. saatin sonunda prepupal form olarak adlandırılan hareketsiz larva olarak görünmekte, kısa bir süre sonra da pupa formuna dönüşmektedir (Parlak, 2001).

Pupal evre belirgin dönüşümlerin gerçekleştiği bir geçiş evresidir ve 8-14 gün sürmektedir. Bu evre boyunca iç organlar tamamen değişime uğrarken morfolojik ve fonksiyonel olarak ergin vücut yapısına uyum sağlamaktadır. Başlangıçta açık sarı renkte ve yumuşak olan pupa zamanla kahverengiye döner ve derisi sertleşir (Singh, 2007; Susithra, 2014). Larval evrede işlevsel olan çoğu doku ve organ histolize uğrayarak ortadan kaldırılır ya da ergin doku ve organı oluşturmak üzere yeniden yapılanmaktadır. Koza içinde metamorfozunu tamamlayarak kelebek

haline geçen *Bombyx mori* salgıladığı alkali tükürük yardımı ile kozayı delerek dışarı çıkmaktadır (Parlak, 2001).

Ergin formdaki *Bombyx mori* yaklaşık 2,5 cm'dir. Krem renginde olan ergin bireyler zayıf kanatlarına göre ağır bir gövdeye sahip olması sebebiyle uçuş davranışı göstermezler. Bu evredeki yaşam süresi 3-10 gündür. Kısa süren bu ergin evre boyunca beslenmemektedir. Kozadan çıkışı takiben dişi ve erkek bireyler birkaç saat boyunca çiftleşebilmektedir. Erkek bireyler çiftleşme sonlandıktan sonra ölürken dişi bireyler 24 saat sonunda yumurta bırakmaya başlamaktadır. Dişi bireylerin her biri yaklaşık 400-500 adet yumurta bıraktıktan sonra ölmektedir (Singh, 2007; Susithra, 2014). Holometabol böceklerde larval-pupal metamorfoz sırasında, ayrıca ergin evrede uçuş, üreme gibi fonksiyonlar için kullanılan enerji böceklerin fat bodysinde depolanan makromoleküllerin metabolize olması sonucunda elde edilmektedir (Resh and Carde, 2003).

Böceklerde embriyogenez sırasında sölomik boşlukların mezoderminden türevlenerek oluşan fat body hemolenf içinde süspanse halde bulunmaktadır. Böylece yağ doku ve hemolenf ile temas halinde olmaktadır. Böceklerin tüm yaşam evrelerinde, tek bir doku olarak bulunup, genellikle trakelerle sarılı gevşek tabakalar, şeritler ve loplar şeklinde düzenlenmektedir (Hauerland and Shirk, 1995; Jensen and Borgesen, 2000; Resh and Carde, 2003; Gillot, 2005; Arrese and Soulages, 2010; Roma et al., 2010; Chapman, 2013; Gullan and Cranston, 2014). Vücudun geneline yayılan fat body yoğun olarak abdomende bulunmaktadır (Chapman, 2013).

Fat body pleomorfik (farklı morfolojilerde olabilen) ve farklı fizyolojik özelliklere sahip bir dokudur. Organizmaya, canlının hayat evresine ve bulunduğu konuma göre farklılıklar göstermektedir (Dean et al., 1985). Böceklerde hemosöl boyunca yayılan fat bodynin iki farklı bölgesi ayırt edilmektedir. İntegümentin hemen altında ve kasların yakınlarında bulunan fat body periferel (PF) ya da parietal fat body olarak adlandırılır ve genel olarak depolama işlevinden sorumludur. Sindirim kanalını ve üreme organlarını çevreleyen fat body ise perivisseral (PV) ya da visseral fat body olarak adlandırılır ve PF fat bodye göre metabolik olarak daha aktiftir (Keeley, 1985; Hauerland and Shirk, 1995; Jensen and Borgesen, 2000; Resh and Carde, 2003; Chapman, 2013; Costa-Leonardo et al., 2013).

Fat body temelde protein, yağ ve glikojenin depo edildiği vakuolleri içeren, trofosit ya da adiposit olarak adlandırılan hücrelerden oluşmaktadır. Bu hücreler,

glikojen depolaması ve protein sentezi ile depolamasına rağmen esas olarak sitoplazmalarında bulunan çok sayıdaki yağ damlacığı ile karakterize olmaktadır (Jensen and Borgesen, 2000; Resh and Carde, 2003; Arrese and Soulages, 2010; Paes de Oliveira and Cruz-Landim, 2015). Trofositlerin morfolojisi böceğin gelişim evresine ve beslenme durumuna göre değişiklik göstermektedir (Chapman, 2013). Genç trofositler yuvarlak ve merkezi bir nukleus ve sitoplazmalarında az miktarda inkluzyon içermektedir. Trofositler olgunlaştıkça sitoplazmalarında biriken inkluzyonlar vakuol halini alarak nukleusu sıkıştırılmaktadır. Böceğin türüne ve olgunlaşma evresine bağlı olarak trofositler beyaz, sarı, krem ve mavi renkte olabilmektedir (Resh and Carde, 2003).

Fat body ile ilişkili olan önositler, ektoderm kökenli hemolenf hücrelerdir. Merkezi konumlu bir nukleusa ve asidofilik sitoplazmaya sahip küresel ya da oval şekilli hücrelerdir. Genellikle epidermin hemen altında küçük gruplar halinde ya da fat body loplarnın aralarında bulunsu da böcek gövdesindeki konumu türlere ve gelişim evrelerine göre farklılık göstermektedir. Glikojen depo etmesi gibi fonksiyonları bakımından trofositlere benzemektedir (Dean et al., 1985; Keeley, 1985; Roma et al., 2010; Martins and Ramalho-Ortigão, 2012). Eklembacaklıların, atık metabolitleri dışkı ve idrarla vücuttan uzaklaştırmaları ya da onları zararsız hale getirip fat bodyde depolamaları gibi önemli bir takım stratejileri vardır. Ayrıca önositlerin bu detoksifikasyon süreçlerinde önemli görevler aldığı, kütikulanın dış yüzeyinde bulunan hidrokarbonları sentezleyerek su kaybını önlediği ve böceği insektisitlere karşı koruduğu (Lycett et al., 2006) ve feromonların sentezlenmesinde görev aldığı (Wicker-Thomas et al., 2009) belirtilmiştir.

Karasal böceklerde azot metabolizmasının son ürünü olan ürik asit, bazı böceklerde fat bodynin özelleşmiş bir hücresi olan ürositler tarafından depolanır ve atılımı sağlanır (Hauerland and Shirk, 1995; Resh and Carde, 2003). Özellikle hamam böcekleri ve çekirgelerde bulunduğu bilinen bu hücreler (Arrese and Soulages, 2010) ipek böceği *Bombyx mori* türünde de gösterilmiştir (Poyraz et al., 2013; Yelkovan, 2017). Lepidopterlerde larval evrelerin sonuna doğru tüm fat body hücreleri ürik asit depolamaya başlamaktadır. Depolanan ürik asit vakuolleri, proteinlerle çevrilmiş lifler halinde, nukleusun etrafında yoğunlaşmaktadır. Larval-pupal metamorfoz sırasında ürik asit depolarının boyutu iki katına çıkarak sitoplazmada dağılmaktadır. Bu birikim ergin gelişimi sırasında kaybolmaktadır (Hauerland and Shirk, 1995; Arrese and Soulages, 2010).



Diğer bir fat body hücresi olan misetositler sitoplazmalarında bulunan çeşitli simbiyontlar ile karakterize olurlar (Keeley, 1985; Resh and Carde, 2003; Arrese and Soulages, 2010). Genellikle fat body loplularının merkezlerine yakın olarak bulunan bu hücreler, çok loplulu nukleusa sahip oldukları ve sitoplazmalarında çok fazla simbiyont bulduklarını için büyük boyutludur. Hücre zarı ile çevrili simbiyontların yanı sıra sitoplazmalarında glikojen ve az miktarda yağ bulundurmakta ancak protein bulundurmamaktadır (Dean et al., 1985).

Şeffaf bir epidermise sahip olan Simuliidae ve Thaumaleidae ailelerine ait bireylerin sucul larvalarının renk desenleri, farklılaşmış pigmentli fat body hücreleri olan kromatositler tarafından oluşturulmaktadır. Bu hücrelerin düz ve oldukça ince olması, merkezi konumlu olan nukleuslarının belirgin çıkıntılar oluşturmalarına sebep olmaktadır. Larvalar büyüdükçe trofositleri çevreleyen kromatositlerin sayıları da artmaktadır. Metamorfoz sırasında kromatositlerin kitlesel göç ve yeniden dağılımlarına bağlı olarak çeşitli renk değişimleri meydana gelmektedir. Trofositlerde olduğu gibi depo edilen yağlar ergin gelişimi sırasında kullanılmaktadır (Dean et al., 1985).

Günümüze kadar farklı böceklerde gerçekleştirilen genomu analizi sırasında hemoglobin genlerinin varlığı belirlenmiş ve çeşitli böceklerin fat body ve trake sisteminde hücre içi hemoglobinler tanımlanmıştır. Botfly larvaları (Oestridae, Diptera) ve sırt üstü yüzen böceklerin (Notonectidae, Hemiptera) genomik dizilerinde özel hemoglobin hücreleri belirlenmiştir. Hemoglobin hücreleri 20-80 mm'den [*Anisops* (Notonectidae)] 400 mm'ye [*Gasterophilus* (Oestridae, Diptera)] kadar değişebilen büyüklükte çapa sahip olabilir. Bu hücreler, trakelerle yakından ilişkilidir (Dean et al., 1985).

Heterojen bir yapıya sahip olan fat bodynin morfolojisi ve fonksiyonları lokalizasyonuna göre farklılık gösterebilmektedir (Arrese and Soulages, 2010; Costa-Leonardo et al., 2013). Sinir dokuları, gonadlar, kas sistemi ile özellikle de trakeal sistemler, malpighi tübülleri ve hemolenf gibi hayati dokularla yakından ilişkili olan fat bodynin bu durumu, böceğin açık dolaşım difüzyon sistemine adapte olarak metabolitlerin ve besin maddelerinin emilimini ve salınımını kolaylaştırmaktadır (Resh and Carde, 2003). Fazla alınan besinleri depolaması nedeniyle omurgalıların yağ dokusu ve karaciğerine eşdeğer olarak görülen fat body birçok metabolik, immün ve endokrin fonksiyona sahip ana doku olarak görev almaktadır (Jensen and Borgesen, 2000; Canavoso et al., 2001; Resh and Carde, 2003; Liu et al., 2009; Kaneko et al., 2011; Tian et al., 2013; Azeez et al., 2014; Jia

et al., 2018). Ara metabolizma ve detoksifikasyon süreçlerinden, ayrıca glikojen, yağ ve protein sentezi, depolanması ve metabolize olmasından sorumludur (Resh and Carde, 2003; Costa-Leonardo et al., 2013).

Beslenme yoluyla alınan karbonhidratlar bağırsakta sindirilerek hemolenfe taşınacak olan trehaloza dönüştürülür. Trehaloz dolaşımdaki şeker deposu olarak iş görmekte ve burada trehalaz enzimi ile glukozu hidolize edilmektedir. Glukoz, çeşitli glukoz taşıyıcıları ile ihtiyaç anında kullanılmak üzere dokulara ya da depo edilmek üzere fat bodyde taşınır. Fat bodyde glikojen formunda depo edilir. Liu ve arkadaşlarının (2009) yaptığı bir çalışmada glikojen ve trehaloz formları, *Bombyx mori* larval evresi boyunca orantılı bir şekilde gelişim göstermiştir. Larval-pupal metamorfozu için acil enerji kaynağı olarak depolanan bu karbonhidratlar koza için yer arayışı sırasında ise büyük ölçüde azalmıştır. Larval evrede trehalozun, pupal evrede ise glukozun baskın hemolenf şekeri olduğu gözlenmiştir.

Besinlerle birlikte bağırsağa taşınan yağlar burada diaçilgliserole dönüştürülerek hemolenfe taşınmaktadır. Fat bodyde sentezlenen apolipoprotein lipitlenerek hemolenfe yüksek yoğunluklu lipoprotein (high density lipoprotein, HDL) olarak salınır. Hemolenfteki HDL ve diaçilgliserol bağlanarak düşük yoğunluklu lipoproteini (low density lipoprotein, LDL) oluşturur. HDL ve LDL yağların emilim (bağırsak), depolanma (fat body) ve kullanım (uçma kasları ve ovaryum gibi organlar) bölgeleri arasında yeniden kullanılabilen bir mekik gibi iş görür ve genellikle lipoforin olarak adlandırılır. Beslenme döneminde LDL ile ilişkili diaçilgliserolün büyük bir kısmı yağ asitlerine hidrolize edilir ve triaçilgliserol olarak depolanmak üzere fat bodyde taşınır. Depolanan triaçilgliserol deri değişimi, uçma, oogenez gibi fizyolojik şartlarda ve açlık, hipoksi ve uzun mesafeli uçma gibi stres koşullarında bir takım hormonal ve beslenme sinyalleri ile yağ asitlerine kadar parçalanarak gerekli doku ve organlara taşınır. Liu ve ekibinin (2009) yukarıda bahsedilen çalışmasında yağ metabolizması da incelenmiştir. Bu çalışmaya göre larvaların beslenme fazında kademeli olarak artan triaçilgliserol, deri değişimi sırasında azalmıştır. Diaçilgliserol seviyesi, her deri değişimi sırasında ekdizon ile bariz bir korelasyon göstererek hızlıca artmıştır. Özellikle pupal dönemde erkek bireyler daha fazla yağ depolamıştır.

Proteinler ise hemolenfe taşınacak olan amino asitlere parçalanır. Hemolenften çeşitli amino asit taşıyıcıları ile taşınan amino asitler, kullanılmak üzere diğer dokulara iletilmeden önce fat bodyde depo edilir. Birçok böceğin son

larval evresinde, amino asitler fat bodyde larval serum proteinler (LSP) şeklinde sentezlenir ve depo edilmesi için hemolenfe salgılanır (Liu et al., 2009).

Böceğin enerji rezervlerinin sentezi ve kullanımını kontrol eden fat body hücreleri, hemolenf proteinlerini ve dolaşımdaki metabolitleri de sentezlemektedir (Keeley, 1985; Arrese and Soulages, 2010). Morfogenez için amino asit deposu olan depolama proteinleri ve dolaşımdaki lipit taşınmasından sorumlu lipoforinlere ek olarak yumurtanın olgunlaşmasında önemli role sahip vitellojenler de fat body tarafından salgılanmaktadır (Arrese and Soulages, 2010; Cruz-Landim et al., 2013).

Fat body, böcek gelişimini ve metamorfozu düzenleyen farklı hormonal ve beslenme sinyallerinin hedef organıdır (Keeley, 1985; Liu et al., 2009; Arrese and Soulages, 2010; Roma et al., 2010; Azeez et al., 2014; Li et al., 2019). Metamorfoz için gerekli bileşenleri üretme, depolama ve salgılama gibi metabolik aktiviteleri gerçekleştiren fat body hücreleri bu süreçte, morfolojik, histolojik, biyokimyasal ve organizasyon açısından belirgin değişikliklere uğramaktadır (Dean et al., 1985; Haunerland and Shirk, 1995; Resh and Carde, 2003; Tian et al., 2013; Jia et al., 2018). Hemimetabol böceklerde larval fat body büyük değişiklikler olmadan ergin yaşamında da bulunmaya devam eder. Holometabol böceklerde ise metamorfoz sırasında tek tek hücelere ayrılan fat body belirgin değişikliğe uğrayarak yeniden oluşturulmaktadır (Kaneko, 2011; Chapman, 2013). Holometabol böceklerin yaşam döngüsü boyunca hemolenf ve fat body hücreleri arasında madde alışverişi yapılmaktadır. Larval gelişim boyunca hemolenfe aktarılan proteinler, metamorfoz sırasında kullanılmak üzere trofositler tarafından depolanmaktadır. Metamorfoz aşamasındaki böcekler ve ipek böceği *Bombyx mori*'de olduğu gibi bazı böceklerin ergin evrelerinde beslenme davranışı görülmemektedir. Bu böceklerde ergin dokularının oluşumunu desteklemek için larval aşamada yeterli miktarda besin depolanmaktadır (Resh and Carde, 2003; Chapman, 2013).

*D. melanogaster* ve *B. mori*'de, fat bodynin yeniden şekillenmesi boyunca programlanmış hücre ölümünü hücre ayrışması takip eder (Li et al., 2019). Larval evrede fat body hücreleri bazal membran tarafından kümeler halinde bir arada tutulmaktadır. Metamorfoz sırasında hücrelerin tek tek ayrılmasının sebebi bu bazal membranın bozulmaya uğramasıdır (Kaneko et al., 2011). Fat bodynin yeniden şekillenmesi, besin moleküllerini, özellikle de, holometabol böceklerde yeni ergin dokularının büyüme ve farklılaşmasını desteklemek için kullanılan larval fat body dokularında depolanan lipitler ve proteinleri harekete geçirdiği düşünülmektedir. Fat body yeniden şekillenmesinin son adımı ergin fat body dokularının oluşumudur.

Holometabol böceklerde, ergin fat body dokularının iki kökene sahip olduğu düşünülmektedir. Bunlar; tek tek ayrılan larval fat body hücrelerinden yeniden oluşmaları ve ergin progenitör hücrelerden yeniden üretilmeleridir. Ancak, bu iki olay için henüz ayrıntılı deneysel veri bulunmamaktadır (Li et al., 2019).

Yapılan literatür taraması sırasında bir çok böcekte fat bodynin yapı ve işlevi hakkında bilgiye ulaşılmış fakat farklı gelişim evrelerine sahip olan ipek böceği *Bombyx mori*'nin postembriyonik gelişim evrelerindeki fat body hücre yapıları ve içeriği hakkında bilgi eksikliği olduğu gözlenmiştir. Bu çalışma *B. mori*'de fat body hücrelerinin histolojisi ve histokimyası, postembriyonik gelişim evrelerine bağlı olarak araştırılıp ortaya konulması ve bu hücrelerin içerdiği karbonhidrat, protein ve yağ moleküllerinin histokimyasal olarak belirlenmesini hedef almıştır. Ayrıca bu çalışma temel bilimlere ve ileride *B. mori* türüyle ilgili histolojik, fizyolojik veya ince yapı çalışmak isteyen araştırmacılara katkı sağlaması amacıyla yürütülmüştür.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma materyali olan ipek böceği *Bombyx mori* hibrit yumurtaları Bursa Kozabirlik' ten temin edilmiş ve bölümümüzün İpek Böceği Kültür Laboratuvarında yetiştirilmiştir.

#### 3.1. İpek Böceği Kültür Laboratuvarının Hazırlanması

Böceklerin yetiştirilmesine başlamadan 1 hafta önce laboratuvarın duvarlarına ve besleme sırasında kullanılacak malzemelere %3'lük formaldehit püskürtülerek sterilizasyon sağlanmıştır. Böceklerin gelişiminin normal bir şekilde devam etmesi için beslendikleri yaprağın kalitesinin yanı sıra laboratuvarın sıcaklığı, nemi ve hava sirkülasyonu önemli çevresel faktörlerdir. Bu nedenle laboratuvarın sıcaklığının  $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ , neminin larval evreye bağlı olarak başlangıçta %80-90 daha sonra yaklaşık %70 civarı olmasına dikkat edilmiş ve hava sirkülasyonu sağlanmıştır. Ayrıca ipek böcekleri çok karanlığı ve fazla ışığa sevmedikleri için kültür odasında doğal foto periyot olan uzun gün periyodu kullanılarak karanlık ve aydınlık arasında uygunluk sağlanmıştır (Ryu, 1978; Kozabirlik, 2016).

#### 3.2. İpek Böceklerinin Yetiştirilmesi

Yaklaşık 10 gün süren inkübasyonu takiben yumurtadan çıkan 1500 adet larva, Ege Üniversitesi kampüsü içindeki dut ağaçlarının yaprakları ile beslenmeye başlanmıştır. Tablalar içerisindeki larvalar günde üç defa beslenmiş ve bir defa yatak temizliği yapılmıştır. Böceklerin daha iyi beslenebilmeleri için yaprakların kurumamasına dikkat edilerek tablaların üzeri kâğıtla kapatılmıştır. Larval evrenin instarları arasında deri değiştirme sırasında yaprak verilmesi durdurulmuş ve tablaların üzeri açılmıştır. Son larval instarda olan böcekler bağırsak içeriğini boşaltıp, koza örmek için kendine uygun yer aramaya başladığı zaman plastik askılara alınmıştır. Askılarda kozalarını örmeye başlayan böcekler hala larval morfolojilerini korudukları için 2-3 gün boyunca beklenilmiştir. Larva-pupa geçişi, tamamen örülen ve sertleşen kozaların bir kısmı bistüri ile kesilerek takip edilmiştir. Pupaya geçen ipek böcekleri gözlere ayrılmış koza saklama kutularına aktararak, çıkan kelebeklerin buldukları gözlerden ayrılmamaları için üstleri örtülmüştür. Kozalarından kelebeklerin çıkışı başladıktan sonra kutular açılarak dişi-erkek ayrımı yapılmıştır.

Böceklerin yaşam döngüsü boyunca, aşağıda tabloda belirtilen günlerden örneklemeler yapılmıştır (Şekil 3.1).

**Tablo 3.1.** Örneklemelerin yapıldığı evre ve günler.

Evre		Gün
Larva	1. instar	0. gün
	5. instar	0, 4 ve 8. günler
Pupa	Prepupa	
	Pupa	0 ve 10. günler
Ergin (kelebek)	Erkek	0.gün

### 3.3. Morfolojik İnceleme

Fat bodynin böcek içindeki konumunu ve şeklini ortaya çıkarmak amacıyla, 1. instar hariç olmak üzere Tablo 3.1’de belirtilen evrelerde morfolojik incelemeler yapılmıştır.

İpek böceklerini rahat bir şekilde stereo mikroskopta görüntüleyebilmek için parafinli bir petri kabına dorsali yukarıda olacak şekilde konulup, baş, son segment ve laterallerinden iğnelenerek disekte edilmiştir. Hemolenfin kararmasını geciktirmek amacıyla böcek fizyolojik suyu ile yıkama yapılmıştır. Fat bodynin görüntülenmesini kısıtlayan bağırsak ve trakelerin bir kısmı, bazı bireylerde de gonadlar çıkartılmıştır. Olympus marka mikroskop ile fotoğrafları çekilmiştir.

*Ephruse- Beadle'nin böcek fizyolojik suyu:* (Turgay-İzzetoğlu et al., 2008)

NaCl ..... 7,5 gr  
 KCl ..... 0,35 gr  
 CaCl<sub>2</sub> ..... 21 gr  
 Saf su ..... 1000 ml'ye tamamlanır.

### 3.4. Histolojik ve Sitolojik İnceleme

Fat bodynin hemosöldeki dağılımı ve hücre tiplerini belirlemek amacıyla önceden belirlenmiş evrelere ait günlerde ipek böcekleri disekte edilmeden uygulanacak boya yöntemleri göz önünde bulundurularak çeşitli fiksatiflere alınmıştır.

Yaşam döngülerine bağlı olarak büyüyen hayvanların dokularına fiksatiflerin nüfuz etmesini kolaylaştırmak için 5. larval ve prepupal evrelere ait bireyler toraks, abdomen başı ve abdomen sonu olmak üzere 3'e, pupa ve ergin evrelerdeki bireyler ise toraks ve abdomen olmak üzere 2'ye bölünmüştür. Bölme işlemi böcekler belli bir süre fiksatifte bekletildikten sonra keskin bir bisturi ile gerçekleştirilerek fiksasyon işlemine devam edilmiştir.

Fat bodynin genel yapısını belirlemek amacıyla böcekler Bouin ve Karnoy fiksatifleri ile tespit edilmiştir. Fat body hücrelerinde depolanan glikojeni göstermek için Sainte Marie, Karnoy ve Bouin fiksatifleri, protein granüllerini göstermek için ise % 10 formalin, Karnoy ve Bouin fiksatifleri ile tespit edilmiştir. Bu makromoleküllere ek olarak fat bodyde biriken ürik asitleri göstermek amacıyla Karnoy fiksatifi ile tespit yapılmıştır. Tespit edilen örneğin büyüklüğüne bağlı olarak fiksatifte bekleme süresi ayarlanmıştır.

Bouin fiksatifini örnekten uzaklaştırmak için %70 alkolle sarı renk gidene kadar yıkama yapılmıştır. %10 formalinin örnekten uzaklaşması ise 24 saat akar çeşme suyunda bekletilerek sağlanmıştır. Daha sonra dehidrasyon işlemine geçilmiştir. Dehidrasyon artan alkol serileri ile yapılmıştır. Sainte Marie ve Karnoy fiksatiflerinin ise yıkama basamağı yoktur, tespit işleminden sonra örnekler dehidre edilmiştir.

Örnekler dehidrasyondan işleminden sonra ksilol basamaklarından geçirilerek parafine gömülmüştür. Mikrotomda her evredeki böceklerin toraksının 2. segmentinden ve abdomenin 1 ve 5. segmentlerinden, 5'er µm kalınlığında kesitler alınarak histolojik boyamalar yapılmıştır (Öber, 2009; Tablo 3.2). Tamamen kuruyan preparatların Zeiss Axio Scope A1 marka mikroskopla ZEN görüntü analiz yazılımı kullanılarak fotoğrafları çekilmiştir.

*Bouin fiksatifinin hazırlanışı:*

Doymuş pikrik asit ..... 75 ml  
%40 formaldehit ..... 25 ml  
Asetik asit ..... 5 ml

*Karnoy fiksatifinin hazırlanışı:*

%100 etil alkol ..... 60 ml  
Asetik asit ..... 20 ml

*Sainte Marie fiksatifinin hazırlanışı:*

%96 etil alkol ..... 99 ml  
 Asetik asit ..... 1 ml

*%10 formalin fiksatifinin hazırlanışı:*

Saf su ..... 90 ml  
 %40 formaldehit ..... 10 ml

***Mayer Hematoksilen-Eozin (H&E) (Humason, 1962)***

1. Deparafinizasyon (ksilol) ..... 15er dk (x2)
2. Hidrasyon (%100, %96, %70 alkol) ..... 15er dk
3. Mayer hematoksilen CI. 75290 (109249, Merck) ..... 5dk
4. Yıkama (akar çeşme suyu) ..... mavi-mor renk olana kadar
5. Saf suda çalkalama
6. Eozin CI. 45380 (109844, Merck) ..... 1 dk
7. Saf suda çalkalama
8. Dehidrasyon (%70, %96, %100 alkol) ..... 15er dk
9. Şeffaflaştırma (ksilol) ..... 15er dk (x2)
10. Kapama (entellan)

***Merkürük bromfenol mavisi***

1. Deparafinizasyon (ksilol) ..... 15er dk (x2)
2. Hidrasyon (%100, %96, %70 alkol) ..... 15er dk
3. Merkürük bromfenol mavisi ..... 2 saat 15 dk
4. Asetik asitte (%0,5) yıkama ..... 10 dk
5. Yıkama (saf su) ..... kesitler mavi olana kadar(~15 dk)
6. Dehidrasyon (%70, %96, %100 alkol) ..... 15er dk
7. Şeffaflaştırma (ksilol) ..... 15er dk (x2)
8. Kapama (entellan)



*Merkürük bromfenol mavisi hazırlanışı:*

Merkürük klorit ..... 1 gr  
 Bromfenol mavisi ..... 0,05 gr  
 %2'lik asetik asit ..... 100 ml

*Alsiyan mavisi- Periyodik Asit Schiff (PAS) (Humason, 1962)*

1. Deparafinizasyon (ksilol) ..... 15er dk (x2)
2. Hidrasyon (%100, %96, %70 alkol) ..... 15er dk
3. Alsiyan mavisi ..... 30dk
4. Yıkama (akar çeşme suyu) ..... 2 dk
5. Saf suda çalkalama
6. Periyodik asit (%5) ..... 20 dk
7. Yıkama ( akar çeşme suyu) ..... 5 dk
8. Saf suda çalkalama
9. Schiff reaktifi CI. 42500 (109033, Merck) ..... 20 dk
10. Sülfuroz asit ..... 12 dk
11. Yıkama (akar çeşme suyu) ..... 5 dk
12. Saf suda çalkalama
13. Dehidrasyon (%70, %96, %100 alkol) ..... 15er dk
14. Şeffaflaştırma (ksilol) ..... 15er dk (x2)
15. Kapama (entellan)

*Alsiyan mavisi hazırlanışı:*

Alsiyan mavisi 8GX CI. 74240 (105234, Merck) ... 1 gr  
 Asetik asit ..... 3 ml  
 Saf su ..... 97 ml

*Sülfuroz asit hazırlanışı:*

%10'luk sodyum metabisülfid ..... 6 ml  
 1N HCl ..... 5 ml  
 Saf su ..... 100 ml

*IN HCl hazırlanışı:*

HCl ..... 8,35ml  
Saf su ..... 100ml'ye tamamlanır.

**Gümüş nitrat** (Gomori, 1952; Patkin and Sorokin, 1983)

1. Deparafinizasyon (ksilol) ..... 15er dk (x2)
2. Hidrasyon (%100, %96, %70 alkol) ..... 15er dk
3. Gümüş nitrat (etüv içinde, 37°C) ..... 3-4 dk
4. Yıkama (saf su) (etüv içinde, 37°C) ..... 1 dk
5. Sodyum tiyosülfat (%5) ..... 3 dk
6. Saf su çalkalama
7. Light green (zıt boyama) ..... 2-3 dk
8. Saf suda çalkalama
9. Dehidrasyon (%70, %96, %100 alkol) ..... 15er dk
10. Şeffaflaştırma (ksilol) ..... 15er dk (x2)
11. Kapama (entellan)

*Gümüş nitrat hazırlanışı:*

AgNO<sub>3</sub> ..... 4 gr  
Saf su ..... 8 ml

*Jelatin hazırlanışı:*

Jelatin ..... 0,1 gr  
Saf su ..... 5 ml

Jelatin eriyene kadar karıştırıldıktan sonra 50 µl formik asit eklenmiştir. Kesitlerin olduğu lamın üzerine 3 damla jelatin ve 3 damla gümüş nitrat damlatılmıştır. Lamelle kapatılıp etüve konulmuştur.

*Light green hazırlanışı:*

Light green SF yellowish ..... 1 gr  
Saf su ..... 100 ml  
Glasiyal asetik asit ..... 1 ml

Yarı ince yapılarının görüntülenmesi için 5. instar 8. günündeki, pupanın 0. günündeki ve ergin evredeki erkek bireylere diseksiyon yapılarak toraks, abdomen başı ve abdomen sonu bölgelerinden alınan fat body, Karnovski fiksatifinde (%8'lik paraformaldehit, %25'lik glutraldehit, 0.2M kakodilat tampon ve bidistile su) bir gece +4°C'de tespit edilmiştir. Tespitten sonra, tamponda yıkamanın ardından, %1'lik OsO<sub>4</sub> (Ozmiyum tetra oksit) ile ikinci tespit gerçekleştirilmiştir. Ardından doku yükselen derecelerde alkol serilerinden geçirilmiştir. Devamında toluol ve epon serilerinden geçirildikten sonra Epon 812 reçineye gömülmüştür. Epon bloklardan ultramikrotomda alınan 0,75 µm'lik yarı ince kesitler toluidin mavisi ile boyanarak (Soysüren, 2016). Zeiss Axio Scope A1 marka mikroskopla ZEN görüntü analiz yazılımı kullanılarak fotoğrafları çekilmiştir.

TEM için gridlere alınan ince kesitler, sırasıyla uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanmıştır (Soysüren, 2016; Tablo 3.2). Gridler Jeol 100C elektron mikroskobunda incelenmiş, TEM Jeol 100C dijitalde çekilmiştir

Toluidin mavisi ile boyanan yarı ince kesitlerin çekilen fotoğrafları üzerinde ZEN görüntü analiz yazılımı kullanılarak trofositlerdeki 500 µm<sup>2</sup>'lik bir alan içinde bulunan yağ damlacıklarının sayısı ve bu damlacıkların çap ortalamaları ölçülmüştür. Belirlenen evrelerde toraks ve abdomen bölgeleri boyunca yapılan bu ölçümler 3 kez tekrarlanmıştır. Elde edilen verilerin, SPSS yazılımı kullanılarak gerekli Independent Samples t testi, One way ANOVA ve Man Whitney U istatistiksel analizleri yapılmıştır.

**Tablo 3.2.** Histolojik ve sitolojik preparasyon için kullanılan evre ve yöntemler.

<b>Evre</b>	<b>Fiksatif</b>	<b>Gömme ortamı ve mikrotom çeşidi</b>	<b>Boya</b>
1. instar 0. gün ve 5. instar 0 ve 4. günler Pupa 0 ve 10. günler Ergin erkek	Bouin	Parafin Rotary mikrotom (Baird&Tatlock)	Mayer Hematoksilen- Eozin (H&E)
5. instar 8. gün Prepupa	Karnoy		
1. instar 0. gün 5. instar 0, 4. günler, 8. günün toraks ve abdomen başı Prepupa, Pupa 0 ve 10. günler Ergin erkek	Sainte Marie	Parafin Rotary mikrotom (Baird&Tatlock)	Alsiyan mavisi- Periyodik asit Schiff (PAS)
5. instar 8. gün abdomen sonu	Karnoy		
1.ve 5. instar 0. günler 5. instar 8. gün abdomen sonu Pupa 10. gün toraks ve abdomen başı	%10 formalin		
5. instar 4. gün Prepupa abdomen sonu Pupa 0. gün	Bouin	Parafin Rotary mikrotom (Baird&Tatlock)	Merkürük bromfenol mavisi
5. instar 8. gün toraks ve abdomen başı Prepupa toraks ve abdomen başı Pupa 10. gün abdomen sonu Ergin erkek	Karnoy		
1. instar 0. gün, 5. instar 0, 4 ve 8. günler Prepupa, Pupa 0 ve 10. günler Ergin erkek	Karnoy	Parafin Rotary mikrotom (Baird&Tatlock)	Gümüş nitrat
5. instar 8. gün Pupa 0 Ergin erkek	Karnovski OsO <sub>4</sub>	Epon Ultratom	Toluidin mavisi
5. instar 8. gün Pupa 0 Ergin erkek	Karnovski OsO <sub>4</sub>	Epon Ultratom	Kurşun sitrat Uranyl asetat

## 4. BULGULAR

### 4.1. Morfolojik Bulgular

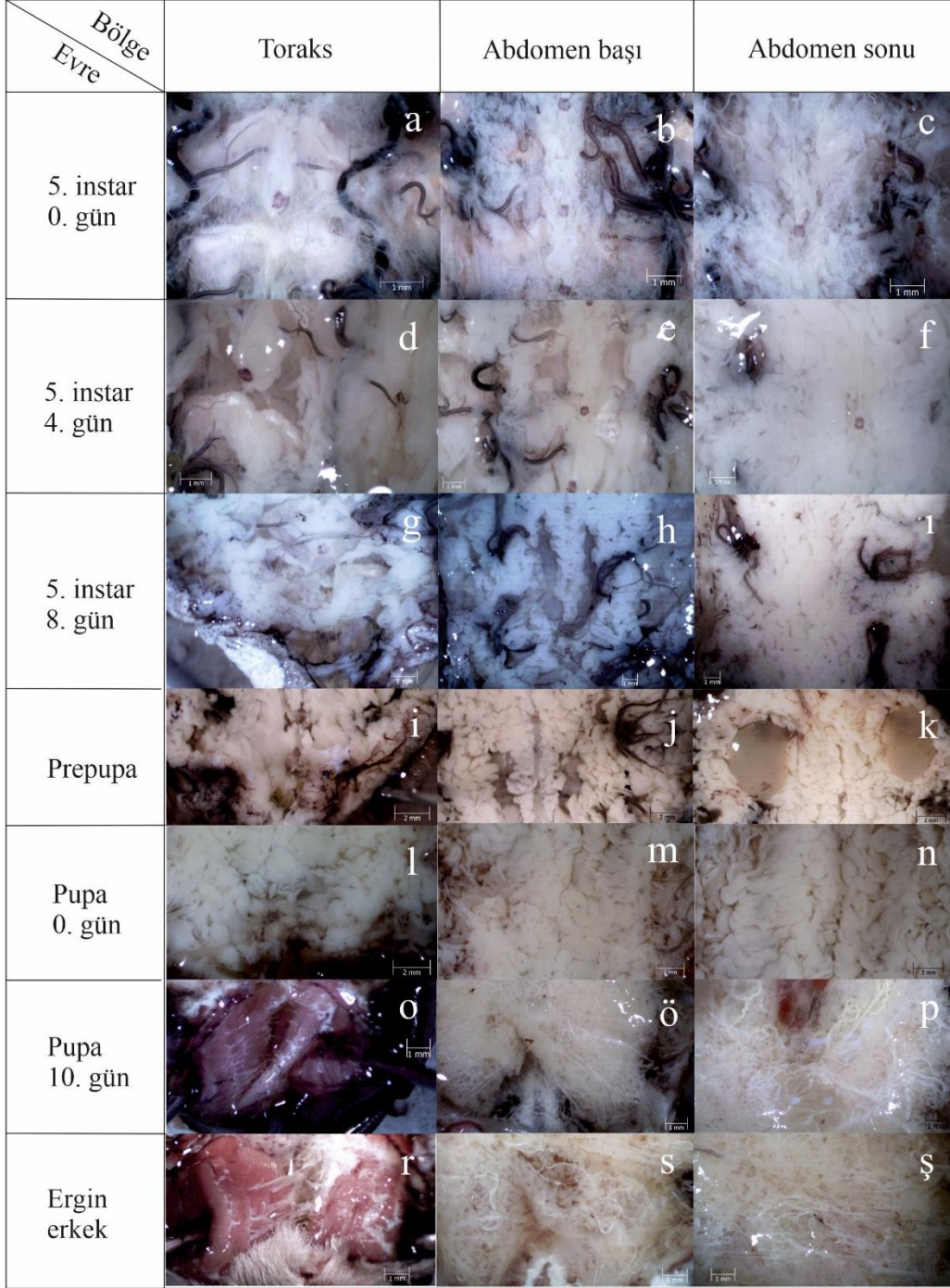
**Larval evre:** 5. instar 0. güne ait böcekler stereo mikroskop altında incelendiğinde fat bodynin toraks ve abdomen boyunca ince şeritler halinde yayıldığı görülmüştür. Tüm vücut segmentlerinde trakelerle temas halinde olduğu dikkat çekmiştir (Şekil 4.1a, b ve c). 4. güne ait bireylerdeki fat body dağılımında bir farklılık görülmemiştir fakat fat body loplarının hem hacminin hem de miktarının arttığı dikkat çekmiştir (Şekil 4.1d, e ve f). 8. gündeki bireylerde fat body lopların daha da büyüdüğü belirlenmiştir. Ayrıca son larval evrenin incelenen üç gününde fat body loplarının yoğunluğunun hayvanın posteriorunda fazla olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.1g, h ve ı).

**Pupal evre:** Prepupa aşamasındaki fat body yapısının larval evrenin 8. günündeki fat body yapısına göre miktarının artmasına rağmen yapısının gevşediği görülmüştür (Şekil 4.1i, j ve k). Pupanın 0. gününde fat bodynin gevşek bir yapı haline geldiği ve tüm vücut boşluklarını kapladığı dikkat çekmiştir. Özellikle toraks ve abdomen başındaki fat body yoğunluğunun, prepupanın toraks ve abdomen başına göre daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil 4.1, m ve n). Pupanın 10. gününde toraks ve abdomen morfolojik olarak tamamen farklılaşmıştır. Torakstaki fat body yok olmuş ve burada sadece uçuş kaslarını gözlenmiştir. Abdomenin tamamında bulunan fat body lopları önceki evrelere göre daha küçülmüş ve sayıca azalmıştır (Şekil 4.1o, ö ve p).

**Ergin evre:** Ergin erkek bireylerin torakslarında sadece uçuş kaslarının yer aldığı belirlenmiştir. Abdomenindeki fat body yoğunluğunun pupanın 10. gününe göre daha da azaldığı ve yapısının daha da gevşek bir hal aldığı görülmüştür (Şekil 4.1r, s ve ş).

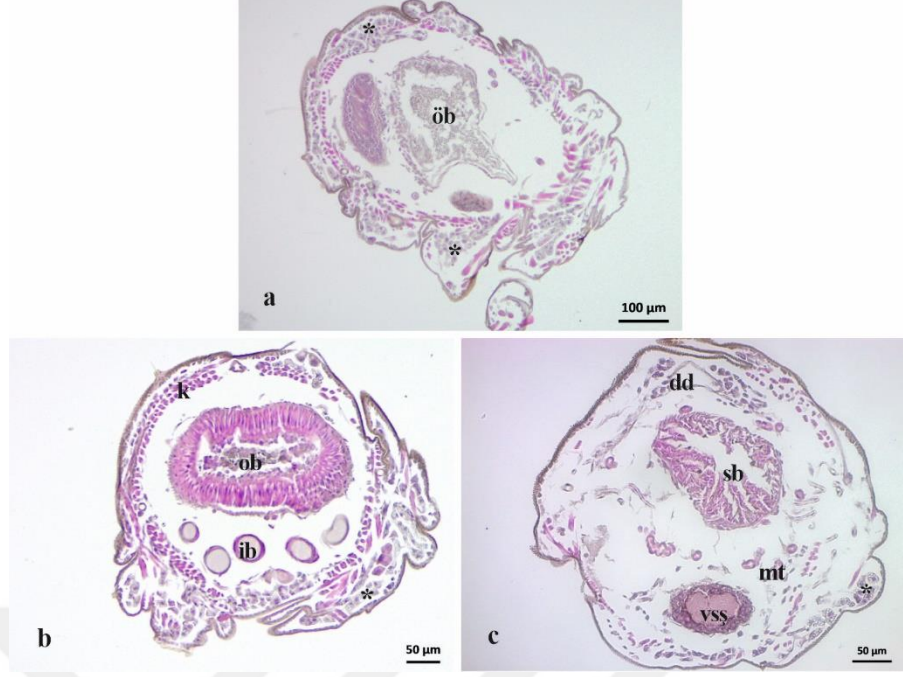
### 4.2. Histolojik Bulgular

Tablo 3.1’de belirtilen evrelere göre, ipek böceklerinin yumurtadan çıkmasından itibaren takip edilen fat bodynin gelişimi, konumu, genel yapısı ve hücrelerini belirlemek amacıyla Mayer Hematoksilen- Eozin boyası uygulanmıştır. Hazırlanan preparatlar incelenmiş ve bu doğrultuda elde edilen bulgular gelişim evreleri (larva, pupa ve ergin) temel alınarak karşılaştırmalar yapılmıştır. İncelenen tüm evrelerde fat bodynin sadece trofositlerden oluştuğu belirlenmiş, ayrıca bazı evrelerde fat body ile ilişkili olan önositlerin varlığı da gösterilmiştir.

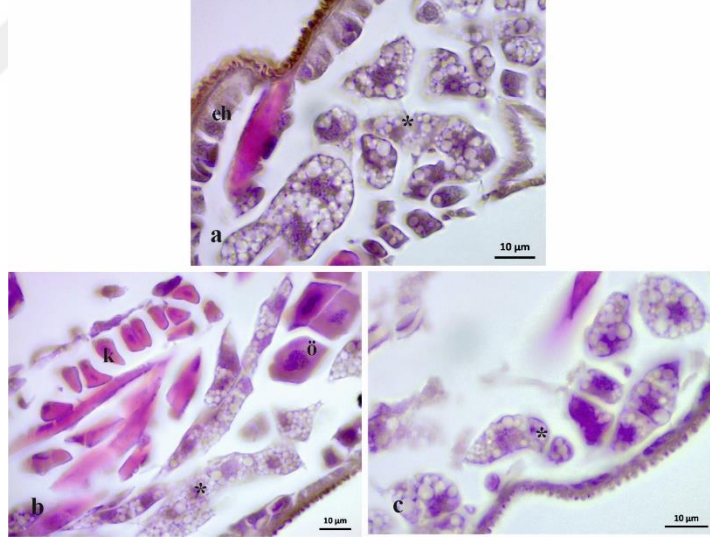


Şekil 4.1. *Bombyx mori*'nin fat body yapısının stereo mikroskop ile gösterilmesi.

**Larval evre:** 1. instarın 0. gününde fat body toraks ve abdomen boyunca integümentin hemen altında yer almıştır (Şekil 4.2). Fat bodynin hem tek tek hücreler halinde hem de tek hücre sırasından oluşan tabaka şeklinde bulunduğu görülmüştür (Şekil 4.3).



**Şekil 4.2.** *Bombyx mori* larvasının 1. instar 0. günündeki fat body yapısının Mayer hematoksilin-eozin ile gösterilmesi. **a)** toraks, **b)** abdomen başı, **c)** abdomen sonu, **dd;** dorsal damar, **ib;** ipek bezi, **k;** kas, **mt;** malpighi tüpleri, **öb;** orta bağırsak **öb;** ön bağırsak, **sb;** son bağırsak **t;** trake, **vss;** ventral sinir şeridi, \*, fat body.



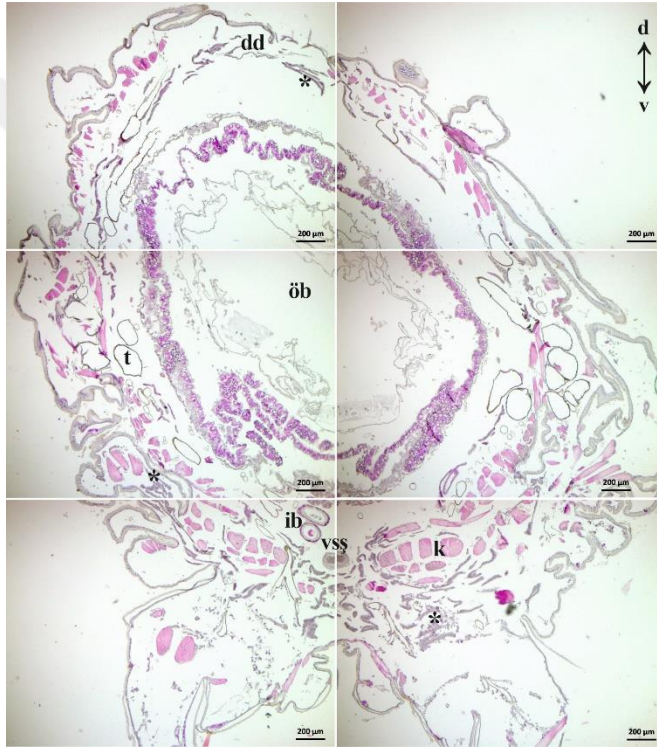
**Şekil 4.3.** *B. mori*'nin 1. instar 0. gününe ait fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi. **a)** toraks, **b)** abdomen başı, **c)** abdomen sonu. **eh;** epidermal hücreler, **k;** kas, **n;** nukleus, **ö;** önosit, \*, fat body.

5. larval evrenin 0. günündeki bireylerin toraks, abdomen başı ve abdomen sonu bölgeleri histolojik açıdan incelendiğinde vücudun büyük bir kısmını kaplayan sindirim kanalı, özellikle dorsalde integümentin hemen altında bulunan kaslar ve vücudun genelinde yer alan trakeler dikkat çekmiştir (Şekil 4.4, 4.5 ve 4.6). Genellikle kübik şekilde olduğu görülen fat body hücrelerinin büyük ve merkezi



konumlu nukleusa sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.7). Bu evrede fat body bazofilik olarak boyanmıştır (Şekil 4.4- 4.7). Bazı bölgelerde fat body loplarının yakınlarda önosit ve hemositlerin bulunduğu da görülmüştür (Şekil 4.7).

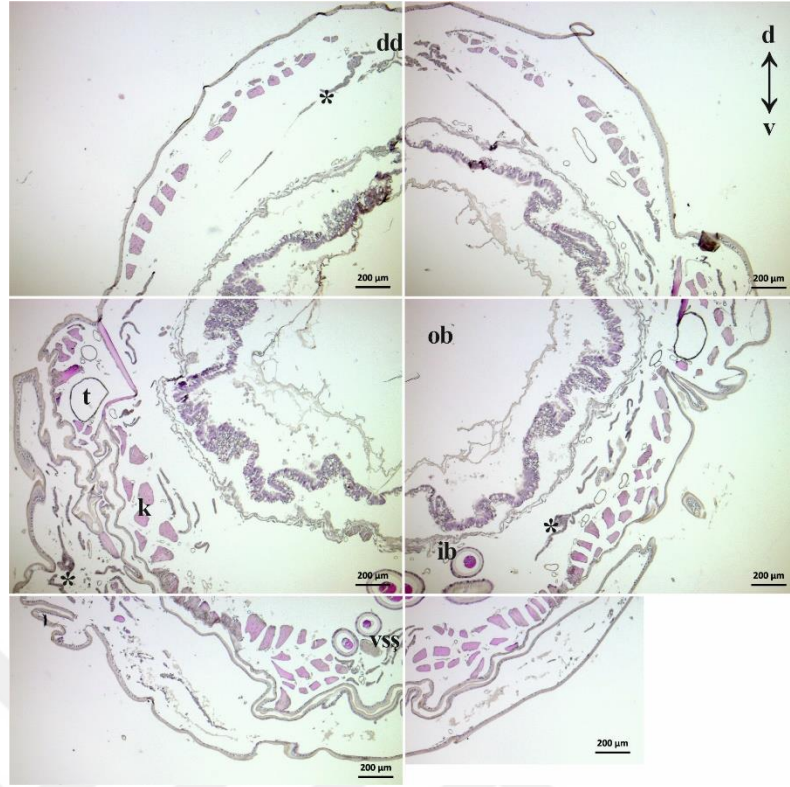
5. instar 0. gününün toraks bölgesindeki fat bodynin dorsalde kaslar ve bağırsak arasında, çoğunlukla tek sıralı hücre tabakaları şeklinde; ventralde ise hem bağırsak ve kasların arasında hem de integümentin hemen altında, birden fazla hücre tabakalarına sahip loplar şeklinde düzenlendiği görülmüştür. Torakstaki yürüme bacalarına kadar uzanan fat bodynin, bu bölgede loplar şeklinde yer aldığı, ayrıca hemolenf hücreleri ile yakından ilişkili olduğu dikkat çekmiştir (Şekil 4.4).



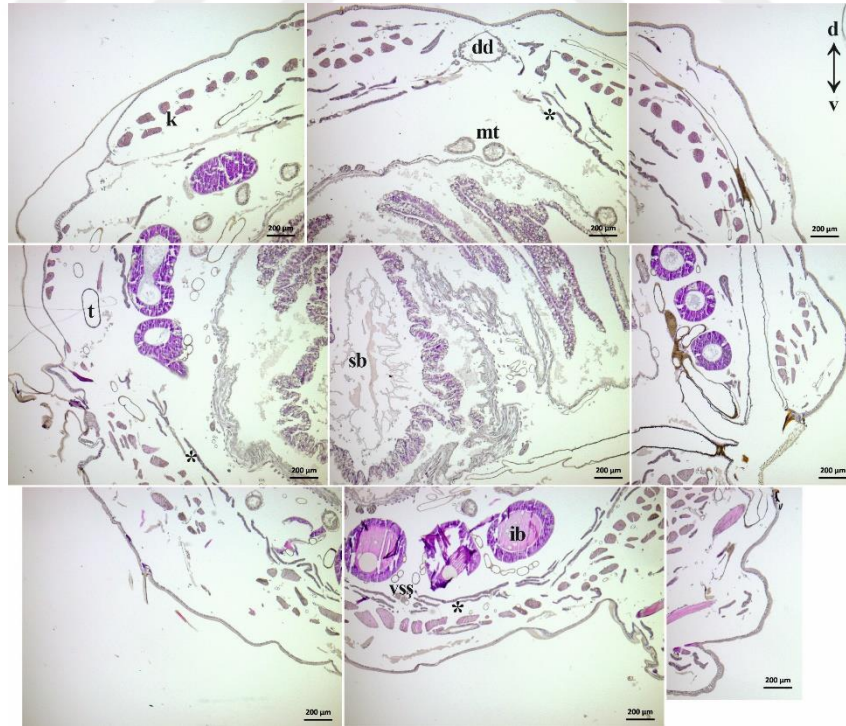
**Şekil 4.4.** *B. mori*'nin 5. instar 0. gününün toraks bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E boyası ile gösterilmesi. **dd**; dorsal damar, **ib**; ipek bezi, **k**; kas, **öb**; ön bağırsak, **t**; trake, **vsş**; ventral sinir şeridi, **\***; fat body.

Abdomen başında ise, fat bodynin bazı bölgelerde tek sıralı hücre tabakaları, bazı bölgelerde ise birçok hücre sırasından oluşan loplar şeklinde sindirim kanalının etrafında gelişi güzel şekilde sıralandığı görülmüştür. Ayrıca fat body loplarının büyük bir kısmının sindirim kanalı ve kaslar arasına yerleştiği belirlenmiştir (Şekil 4.5). Fat bodynin abdomen sonundaki dağılımı, abdomen başındaki fat body dağılımına benzediği belirlenmiştir (Şekil 4.6).

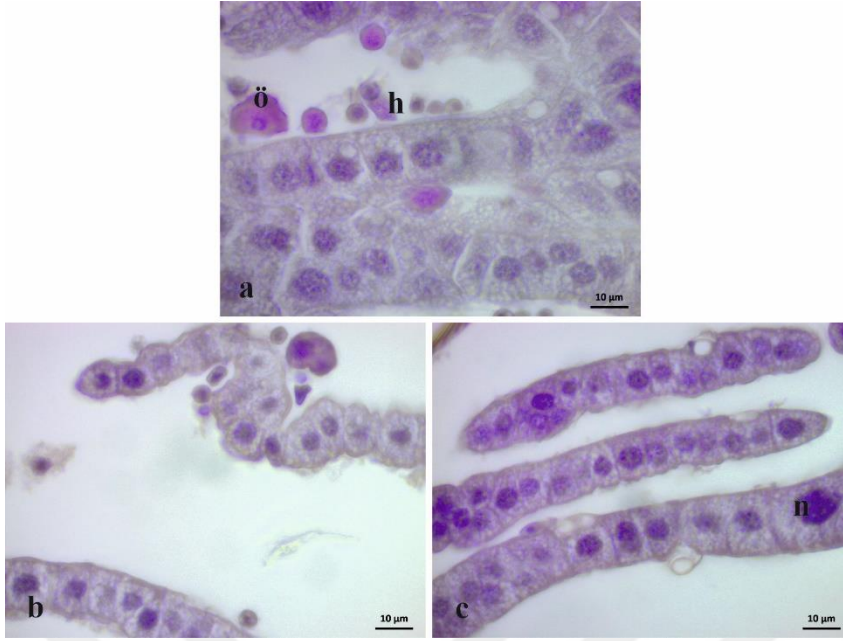




**Şekil 4.5.** *B. mori*'nin 5. instar 0. gününün abdomen başı bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **dd**; dorsal damar, **ib**; ipek bezi, **k**; kas, **ob**; orta bağırsak, **t**; trake, **vss**; ventral sinir şeridi, \*, fat body.

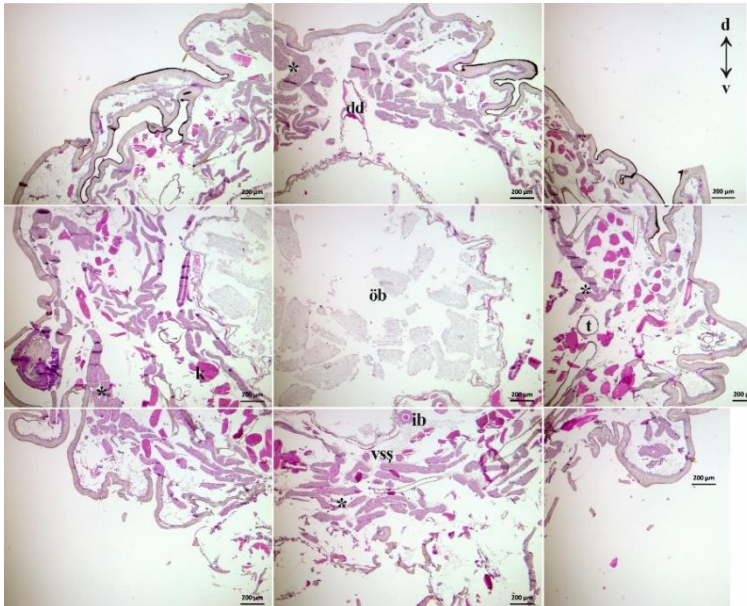


**Şekil 4.6.** *B. mori*'nin 5. instar 0. gününün abdomen sonu bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **dd**; dorsal damar, **ib**; ipek bezi, **k**; kas, **mt**; Malpighi tüpleri, **sb**; son bağırsak, **t**; trake, **vss**; ventral sinir şeridi, \*, fat body.



**Şekil 4.7.** *B. mori*'nin 5. instar 0. gününe ait fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi. a) toraks, b) abdomen başı, c) abdomen sonu. **h**; hemosit, **n**; nukleus, **ö**; önosit.

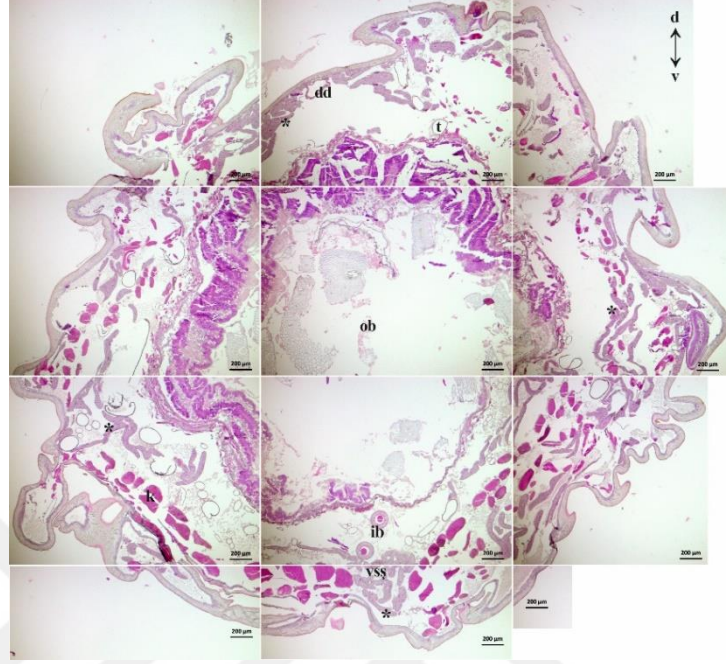
5. larval evrenin 4. gününe ait bireylerin toraksında bağırsağın etrafında birden çok hücre katmanından oluşan fat body lopları nispeten küçük boyutlu, poligonal hücrelerden, integümente yakın olan fat body ise daha büyük hücrelerden oluşur. (Şekil 4.8).



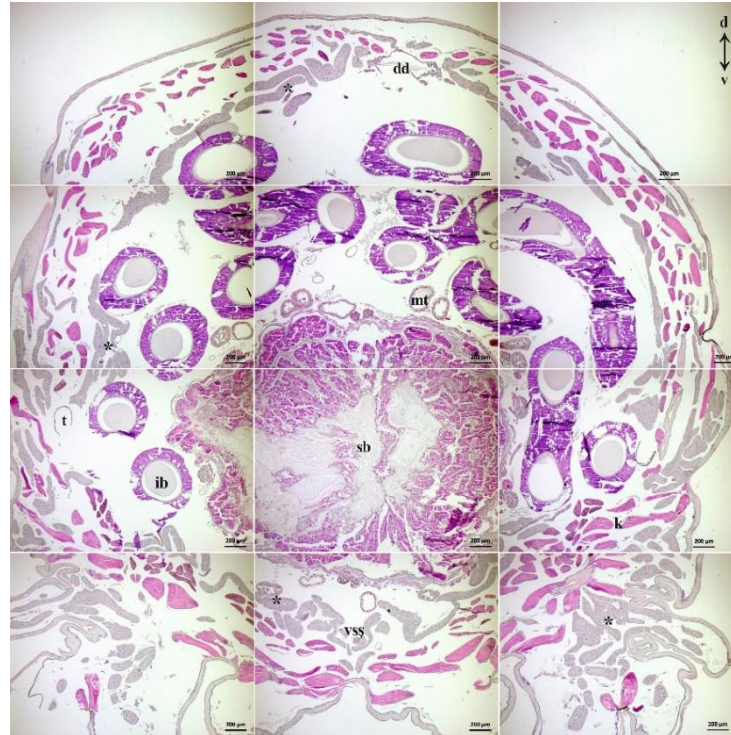
**Şekil 4.8.** *B. mori*'nin 5. instar 4. gününün toraks bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **dd**; dorsal damar, **ib**; ipek bezi, **k**; kas, **öb**; ön bağırsak, **t**; trake, **vss**; ventral sinir şeridi, \*; fat body.



Abdomen başı ve sonunda tek sıralı kompakt fat body hücre tabakaları ile birlikte, çok sayıda hücre sırasından oluşan fat body loplarının tüm vücut boşluklarını doldurduğu görülmüştür (Şekil 4.9 ve 4.10).



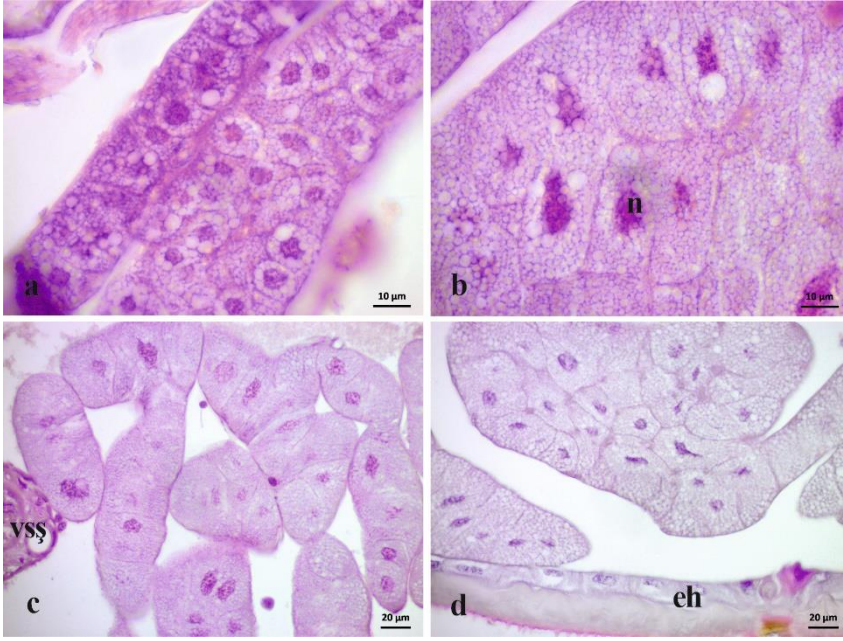
**Şekil 4.9.** *B. mori*'nin 5. instar 4. gününün abdomen başı bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **dd**; dorsal damar, **ib**; ipek bezi, **k**; kas, **ob**; orta bağırsak, **t**; trake, **vss**; ventral sinir şeridi, \*; fat body.



**Şekil 4.10.** *B. mori*'nin 5. instar 4. gününün abdomen sonu bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **dd**; dorsal damar, **ib**; ipek bezi, **k**; kas, **mt**; Malpighi tüpleri, **sb**; son bağırsak, **t**; trake, **vss**; ventral sinir şeridi, \*; fat body.

Ayrıca abdomen sonundaki fat body loplarının abdominal ayaklara kadar uzandığı belirlenmiştir (Şekil 4.10). Torakstaki yuvarlak ve merkezi konumlu nukleuslar, abdomen başı ve sonu bölgelerinde sitoplazmadaki vakuollerin bolluğu nedeniyle sıkışmış halde görünmektedir (Şekil 4.11).

Bu evrenin toraks ve abdomen bölgeleri boyunca bulunan fat bodynin 5. instar 0. gündeki bireylerin toraks ve abdomen bölgelerine göre daha yoğun bulunduğu görülmüştür (Şekil 4.4, 4.5, 4.6, 4.8, 4.9 ve 4.10).

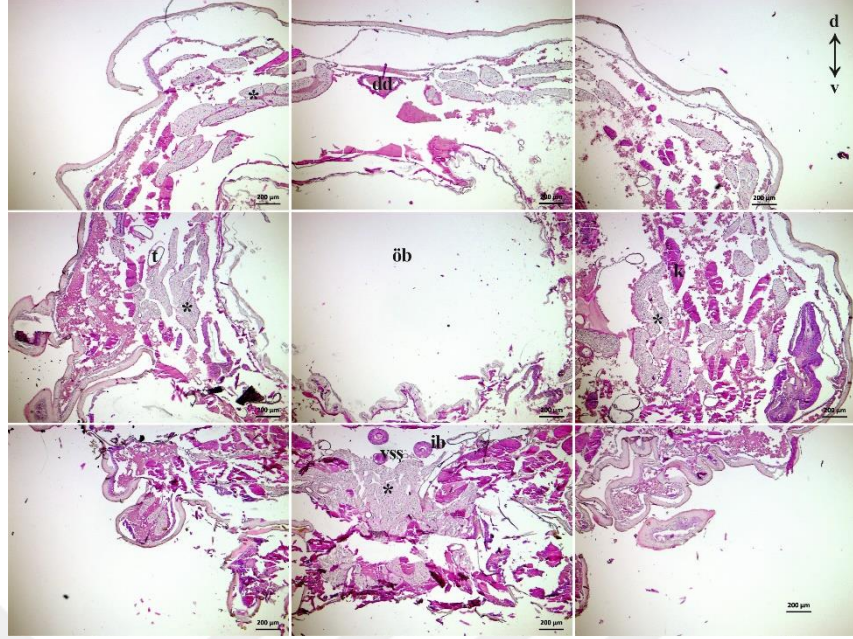


**Şekil 4.11.** *B. mori*'nin 5. instar 4. gününe ait fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi. **a** ve **b**) toraks, **c**) abdomen başı, **d**) abdomen sonu. **eh**; epidermal hücreler, **n**; nukleus, **t**; trake, **vss**; ventral sinir şeridi.

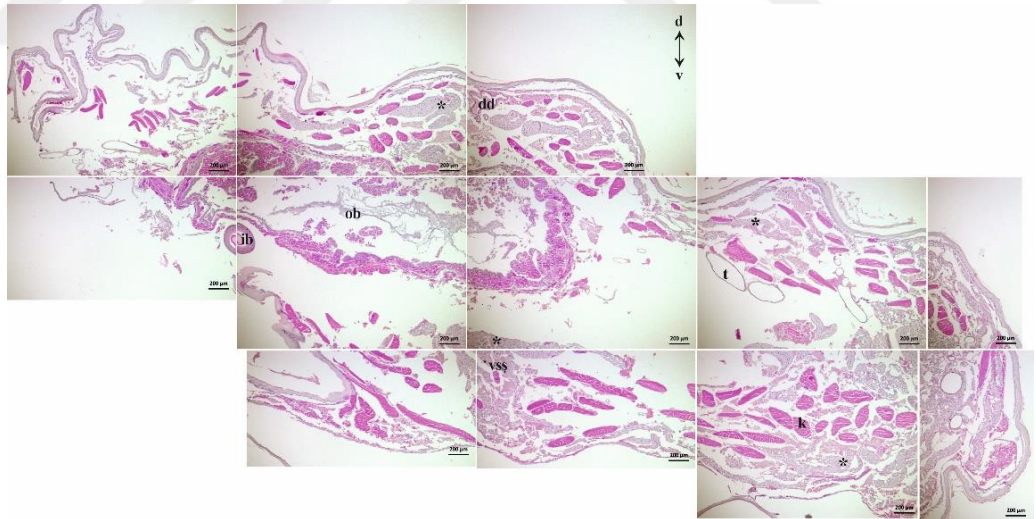
5. instarın 8. gününe ait bireylerin toraks ve abdomen bölgeleri boyunca fat body loplarının önceki evrelere göre daha da arttığı görülmüştür (Şekil 4.12- 4.14).

Toraks ve abdomen başında, önceki evrelerde gördüğümüz kompakt hücre yapısının bozulmaya başladığı (Şekil 4.15a ve b), abdomen sonundaki trofositlerin kompakt yapısının ise korunduğu belirlenmiştir (Şekil 4.15c). Trofositlerin nukleusları merkezi konumlu ve yer yer sitoplazmalarındaki yoğun depo vakuolleri tarafından sıkışmış halde görülmektedir (Şekil 4.15).

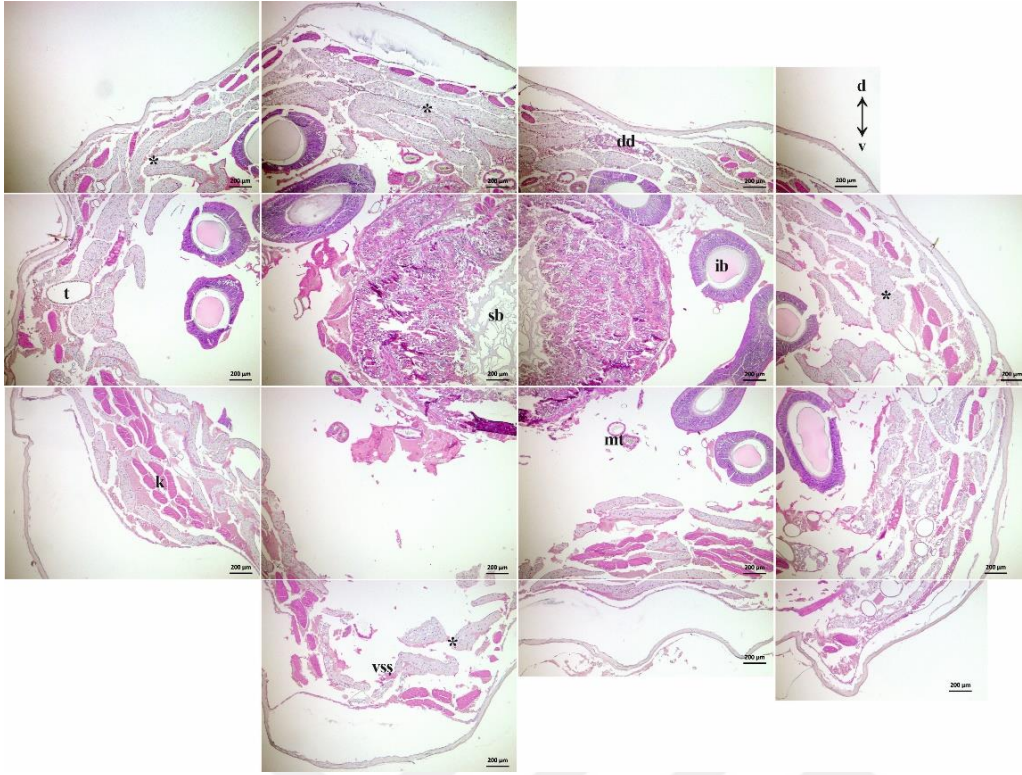




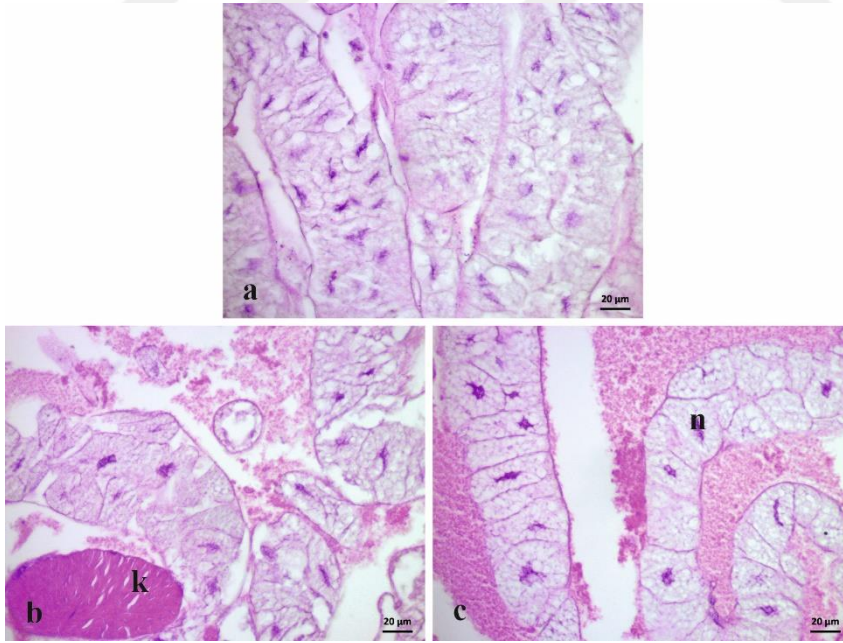
**Şekil 4.12.** *B. mori*'nin 5. instar 8. gününün toraks bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **dd**; dorsal damar, **ib**; ipek bezi, **k**; kas, **ob**; ön bağırsak, **t**; trake, **vss**; ventral sinir şeridi, **\***; fat body.



**Şekil 4.13.** *B. mori*'nin 5. instar 8. gününün abdomen başı bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **dd**; dorsal damar, **ib**; ipek bezi, **k**; kas, **ob**; orta bağırsak, **t**; trake, **vss**; ventral sinir şeridi, **\***; fat body.



**Şekil 4.14.** *B. mori*'nin 5. instar 8. gününün abdomen sonu bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **dd**; dorsal damar, **ib**; ipek bezi, **k**; kas, **mt**; Malpighi tüpleri, **sb**; son bağırsak, **t**; trake, **vss**; ventral sinir şeridi, **\***; fat body.

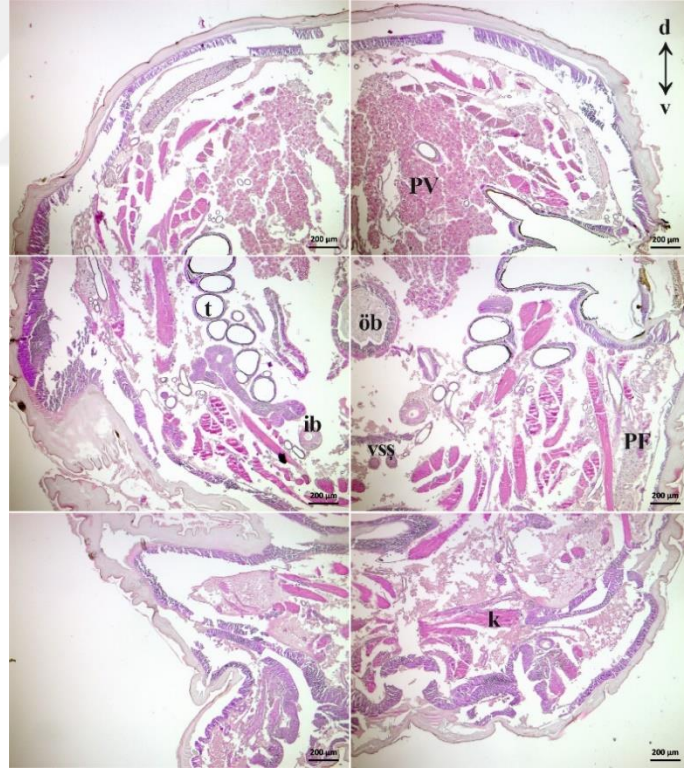


**Şekil 4.15.** *B. mori*'nin 5. instar 8. gününe ait fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi. **a**) toraks, **b**) abdomen başı, **c**) abdomen sonu. **k**; kas, **n**; nukleus.



**Pupal evre:** Genel yapısı bakımından larval evre boyunca bir farklılık bulunmayan fat bodynin, prepupal evre boyunca tüm bölgelerde PF ve PV olmak üzere histolojik olarak ayrımı yapılmıştır. Genellikle integümentin yakınlarında konumlanan PF fat body hücrelerinin sınırları belirgindir ve lop yapısı gevşemeye başlamıştır. Özellikle sindirim kanalının etrafında ve diğer dokularla da yer yer temas halinde olan PV fat bodynin gevşek lop yapısının bozulmaya başladığı görülmüş ve hücre sınırları net olarak belirlenememiştir (Şekil 4.16- 4.18).

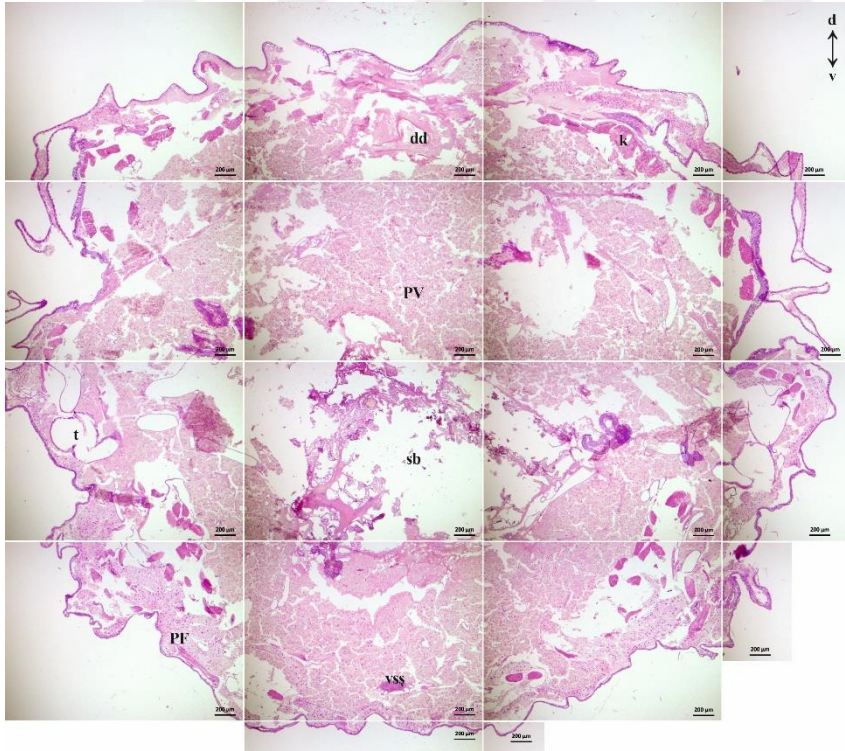
Prepupa toraksında PF fat bodynin büyük yağ damlacıklarına sahip olduğu ve bazofilik boyandığı belirlenmiştir (Şekil 4.19a). PV fat body hücreleri ise, sitoplazmalarında fazlaca yer kaplayan makromolekül depolarına sahip olduğu için asidofilik boyanmıştır (Şekil 4.19b). Abdomen başı ve sonunda PF fat bodynin integümentin hemen altında bulunduğu, neredeyse sadece yağ damlacığı içerdiği ve PV fat bodyye göre daha az bulunduğu belirlenmiş ve her iki doku tipinin de genellikle bazı bölgelerde birbirinden ayrılması, bazı bölgelerde ise birbirine temas etmesine kas tabakasının neden olduğu görülmüştür (Şekil 4.17, 4.18, 4.19c ve d).



**Şekil 4.16.** *B. mori*'nin prepupasının toraks bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **ib**; ipek bezi, **k**; kas, **öb**; ön bağırsak, **PF**; periferal fat body, **PV**; perivisserral fat body, **t**; trake, **vsş**; ventral sinir şeridi.

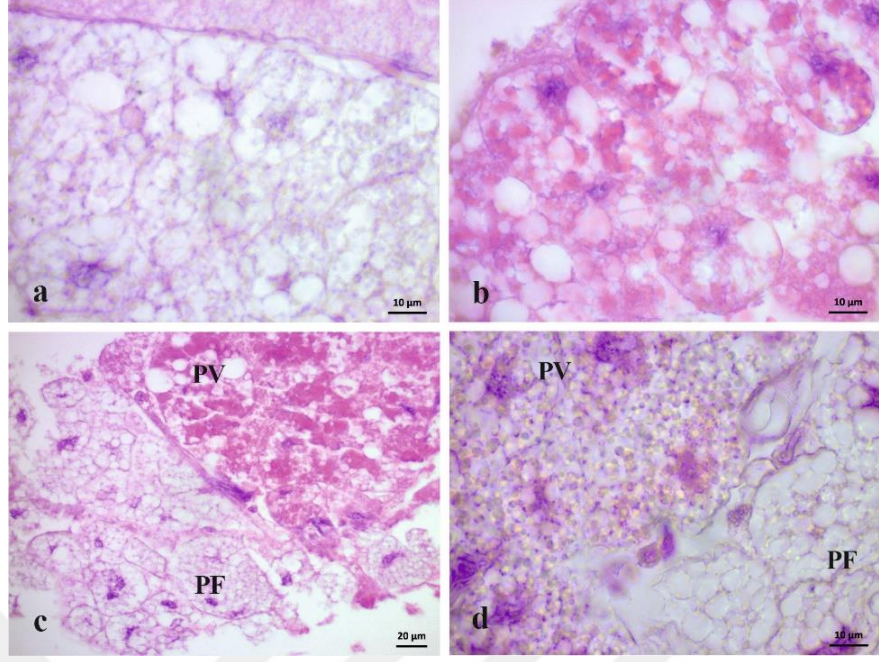


**Şekil 4.17.** *B. mori*'nin prepupasının abdomen başı bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **ib**; ipek bezi, **k**; kas, **ob**; orta bağırsak, **PF**; periferik fat body, **PV**; perivisceral fat body, **t**; trake, **vss**; ventral sinir şeridi.



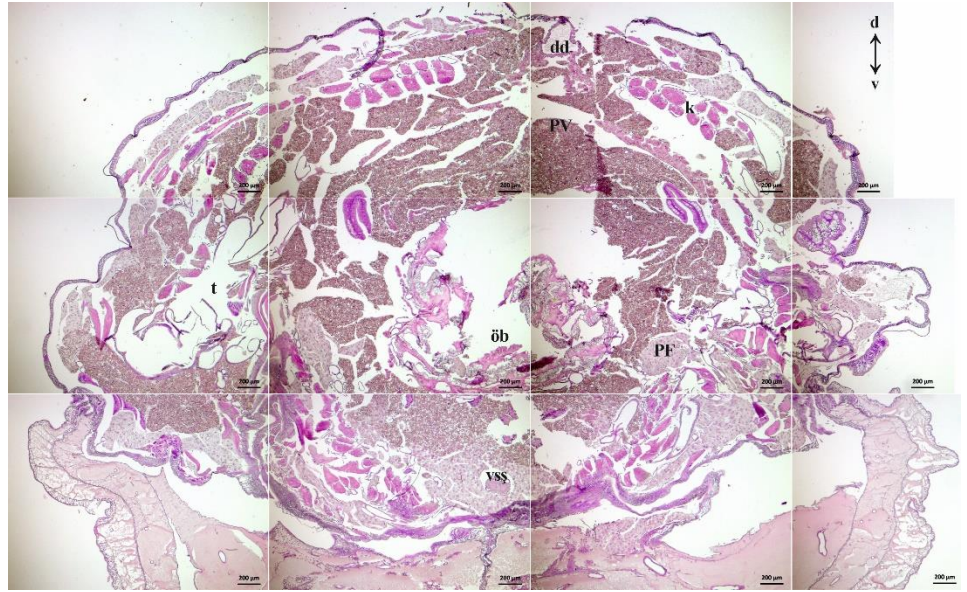
**Şekil 4.18.** *B. mori*'nin prepupasının abdomen sonu bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **dd**; dorsal damar, **k**; kas, **mt**; Malpighi tüpleri, **PF**; periferik fat body, **PV**; perivisceral fat body, **sb**; son bağırsak, **t**; trake, **vss**; ventral sinir şeridi.





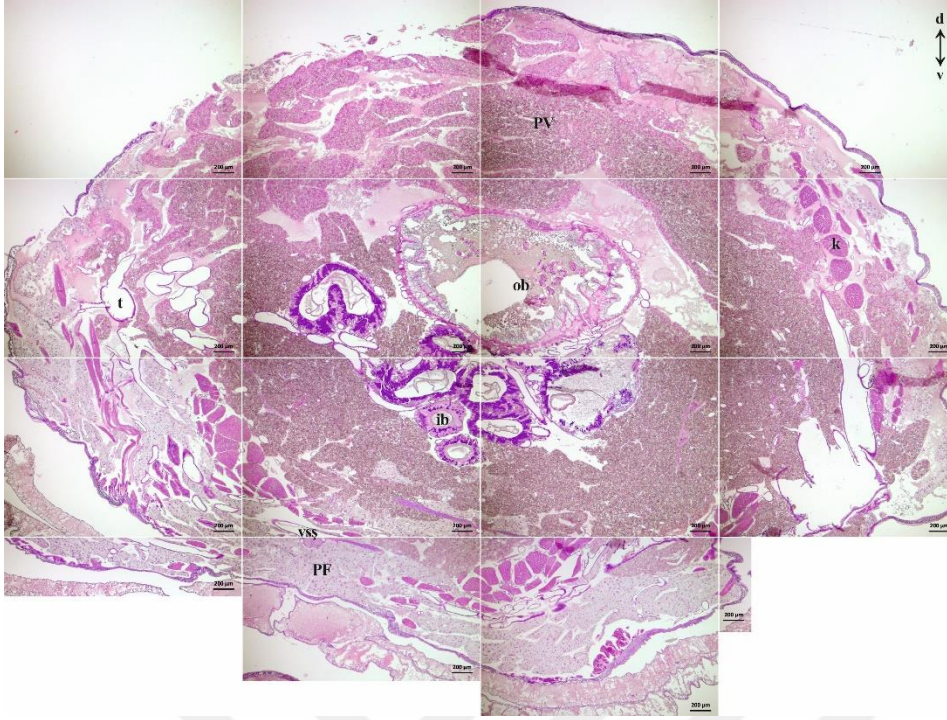
**Şekil 4.19.** *B. mori*'nin prepupasına ait fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi. **a)** toraks PF fat body, **b)** toraks PV fat body, **c)** abdomen başı, **d)** abdomen sonu. **PF**; periferel fat body, **PV**; perivisseral fat body.

Prepupa evresinde olduğu gibi pupanın 0. gününün toraks, abdomen başı ve abdomen sonu bölgelerinde de, integümentin hemen altındaki PF fat body gevşek lop yapısını korumuş ve yağ damlacıkları ile dolu olduğu görülmüştür. İç organları çevreleyen PV fat body lop yapısının tamamen bozulduğu görülmüştür (Şekil 4.20-4.22).

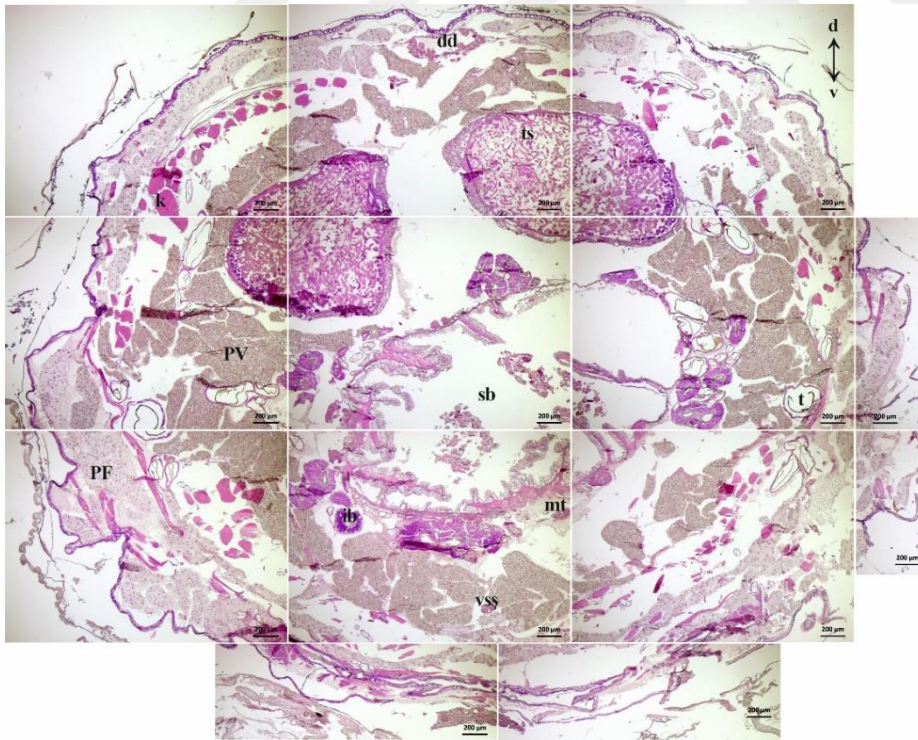


**Şekil 4.20.** *B. mori* pupasının 0. gününün toraks bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **dd**; dorsal damar, **k**; kas, **öb**; ön bağırsak, **PF**; periferel fat body, **PV**; perivisseral fat body, **t**; trake, **vsş**; ventral sinir şeridi.





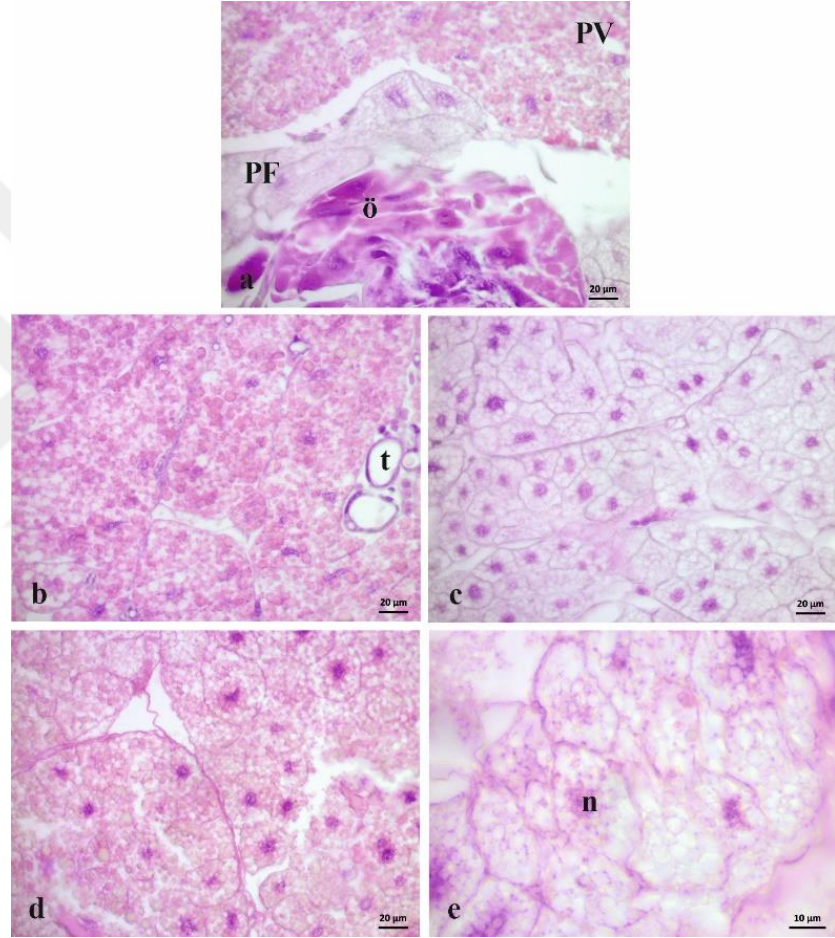
**Şekil 4.21.** *B. mori* pupasının 0. gününün abdomen başı bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **ib**; ipek bezi, **k**; kas, **ob**; orta bağırsak, **PF**; periferel fat body, **PV**; perivisserral fat body, **t**; trake **vss**; ventral sinir şeridi.



**Şekil 4.22.** *B. mori* pupasının 0. gününün abdomen sonu bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **dd**; dorsal damar, **ib**; ipek bezi, **k**; kas, **mt**; Malpighi tüpleri, **PF**; periferel fat body, **PV**; perivisserral fat body, **sb**; son bağırsak, **t**; trake, **ts**; testis, **vss**; ventral sinir şeridi.

PF fat body genellikle integümentin hemen altında bulunmasına ve bir kas tabakası ile PV fat bodyden ayrılmasına rağmen bu iki doku bazı bölgelerde birbirine temas etmiştir (Şekil 4.23a).

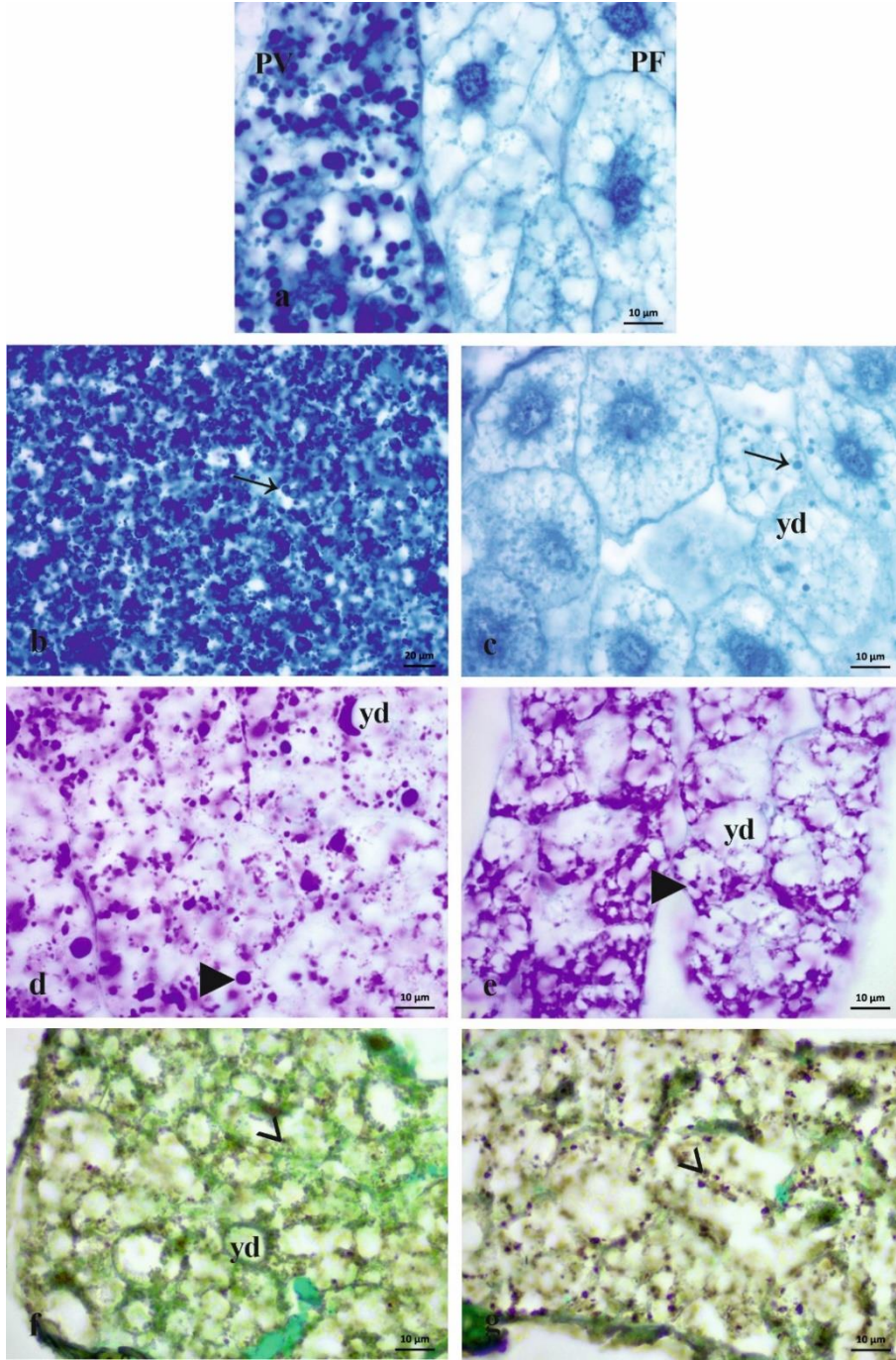
Pupanın 0. gününde de bütün bölgelerde PF ve PV fat bodynin histolojik olarak ayrımı yapılabilmektedir. Hatta bu ayrım makromolekül belirlemede kullanılan farklı histokimyasal boyalarla da çok net bir şekilde belirlenmiştir (Şekil 4.23ve 4.24).



**Şekil 4.23.** *B. mori* pupasının 0. gününe ait fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi. **a)** toraks, **b** ve **c)** abdomen başı (sırasıyla **PV** ve **PF**), **d** ve **e)** abdomen sonu (sırasıyla **PV** ve **PF**). **n**; nukleus, **ö**; önosit, **PF**; periferal fat body, **PV**; perivisserral fat body, **t**; trake.

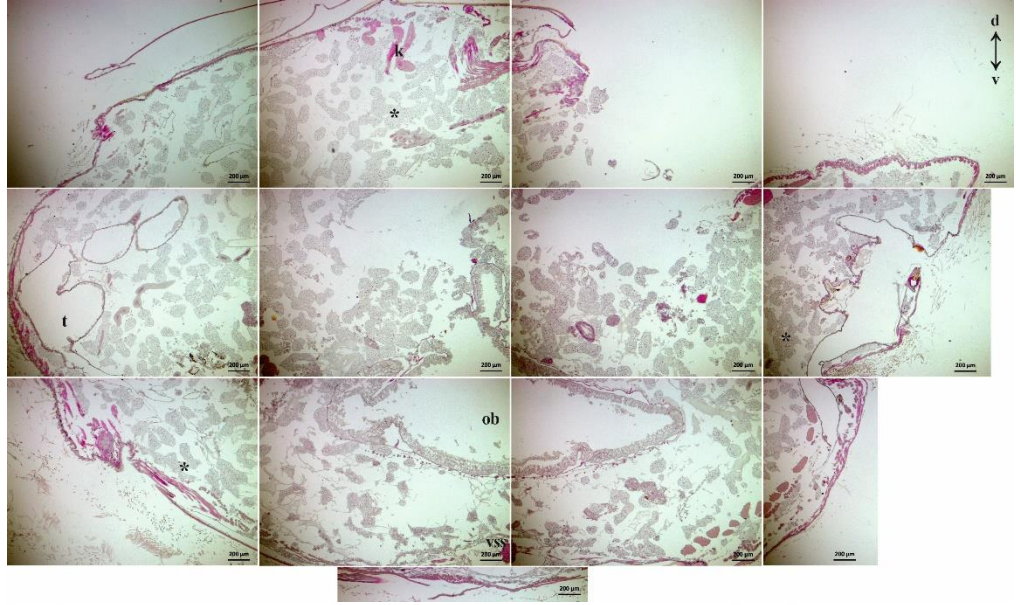
Makroskobik incelemeler sırasında pupal evrenin 10. gününden itibaren toraks bölgesinde sadece kas doku görüldüğü için pupanın 10. günündeki ve ergin bireylerin toraks bölgeleri histolojik-sitolojik incelemelere alınmamıştır (Şekil 4.1o ve r).



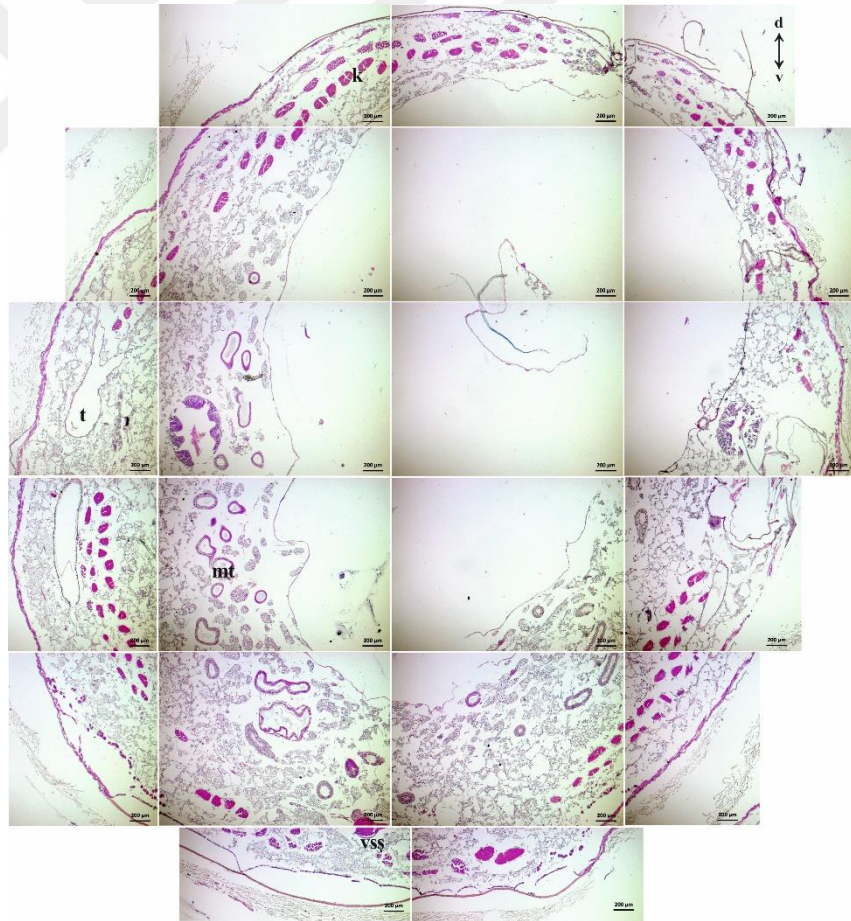


**Şekil 4.24.** *B. mori* pupası 0. gününde abdomen başı bölgesindeki periferal (PF- sağ) ve perivisceral (PV- sol) fat bodylerin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi. **a, b** ve **c**) Merkürük bromfenol mavisi, **d** ve **e**) Alsiyan mavisi- PAS, **f** ve **g**) Gümüş nitrat, **yd**; yağ damlacığı, **►**; glikojen, **→**; protein, **>**; ürik asit

Pupal evrenin 10. günündeki bireylerin abdomen boyunca PF ve PV fat body ayrımı belirlenememiştir. Pupanın 0. günündeki görüntüsünü tamamen kaybeden fat body, gevşek, içi boş yağ damlacıklarından oluşan, dantele benzer loplar halinde yeniden düzenlenmiş ve abdomenin geneline dağılmıştır. (Şekil 4.25- 4.27).

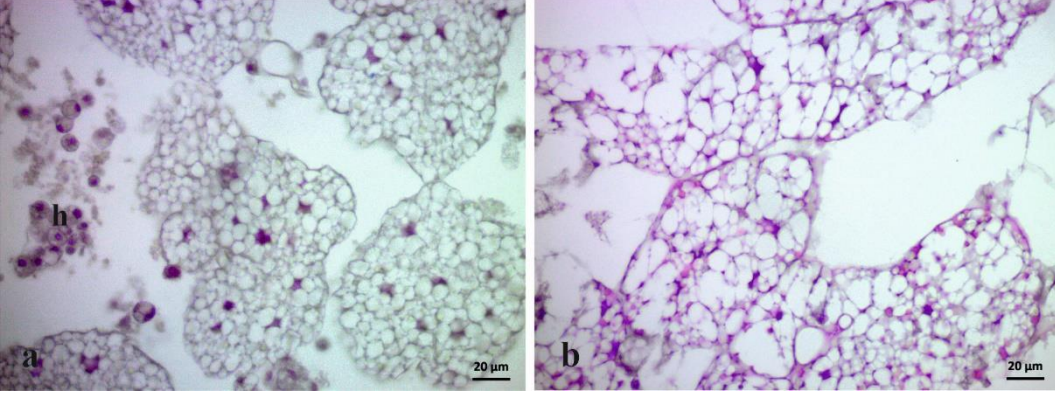


Şekil 4.25. *B. mori* pupası 10. gününün abdomen başı bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **ob**; orta bağırsak, **t**; trake, **k**; kas, **vss**; ventral sinir şeridi, **\***; fat body.



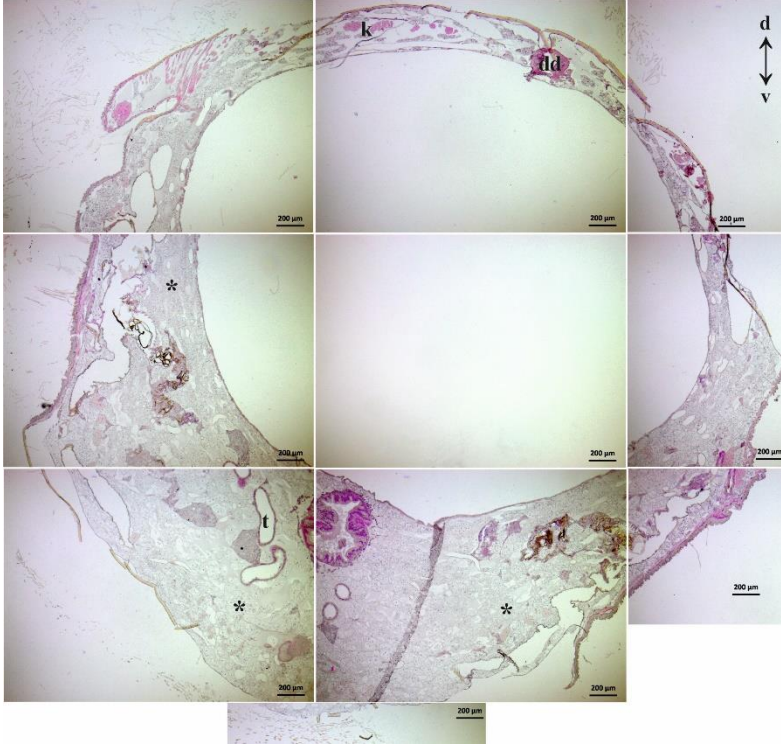
Şekil 4.26. *B. mori* pupası 10. gününün abdomen sonu bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **t**; trake, **k**; kas, **mt**; Malpighi tüpleri, **vss**; ventral sinir şeridi.



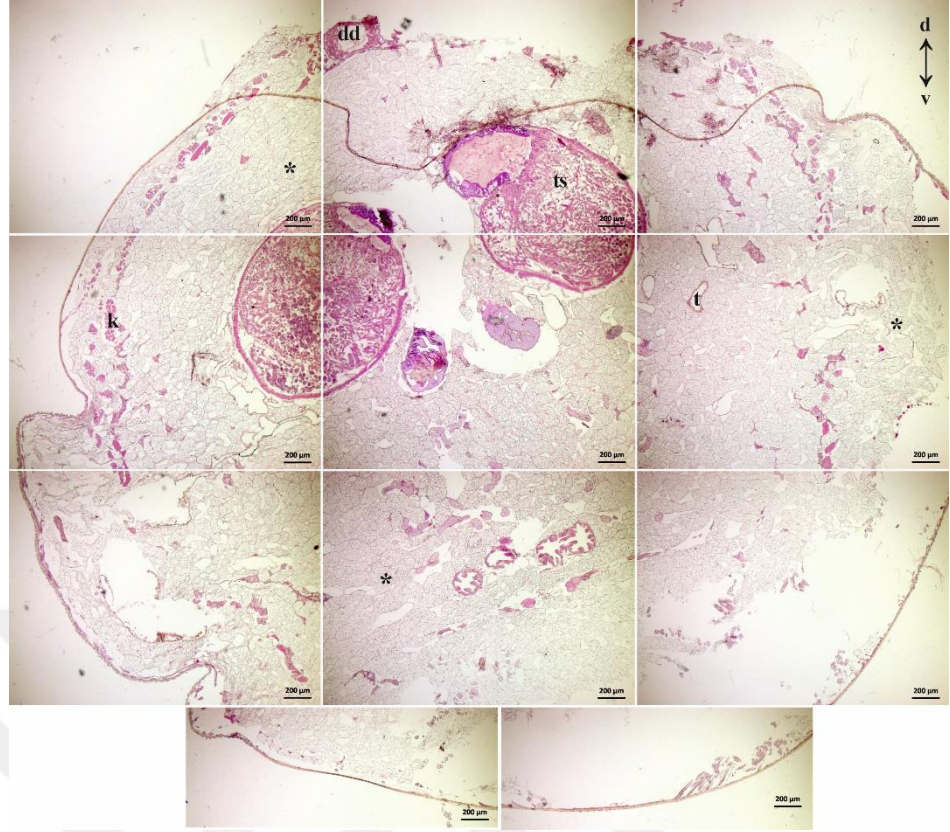


Şekil 4.27. *B. mori* pupası 10. gününe ait fat body hücrelerinin Mayer H-E ile gösterilmesi. a) abdomen başı, b) abdomen sonu. h; hemosit.

**Ergin evre:** Yapılan morfolojik incelemeler sırasında ergin dişi bireylerin abdomeni yumurtalarla dolu olduğu görülmüştür. Bu yumurtalar histolojik preparasyon (fiksasyon ve kesit alma) sırasında zorluk yaratacağından dişi bireyler histolojik incelemelere dahil edilmemiştir. Önceki evrede olduğu gibi PF ve PV olarak ayırımı yapılamayan fat body ergin erkeklerde de, abdomen boyunca dantelimsi yapıda ve tüm vücut boşluklarını kaplamaktadır (Şekil 4.28 ve 4.29).

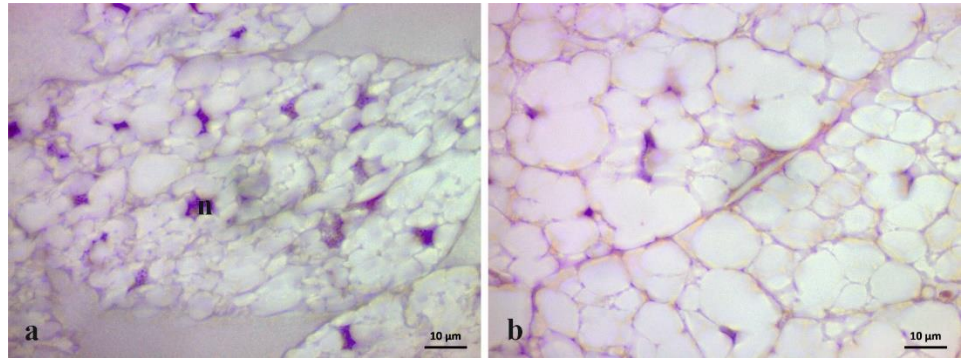


Şekil 4.28. *B. mori* ergin erkeğinin abdomen başı bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. dd; dorsal damar, k; kas, t; trake, \*; fat body.



**Şekil 4.29.** *B. mori* ergin erkeğinin abdomen sonu bölgesine ait fat body yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **dd**; dorsal damar, **k**; kas, **ts**; testis, **t**; trake, **\***; fat body.

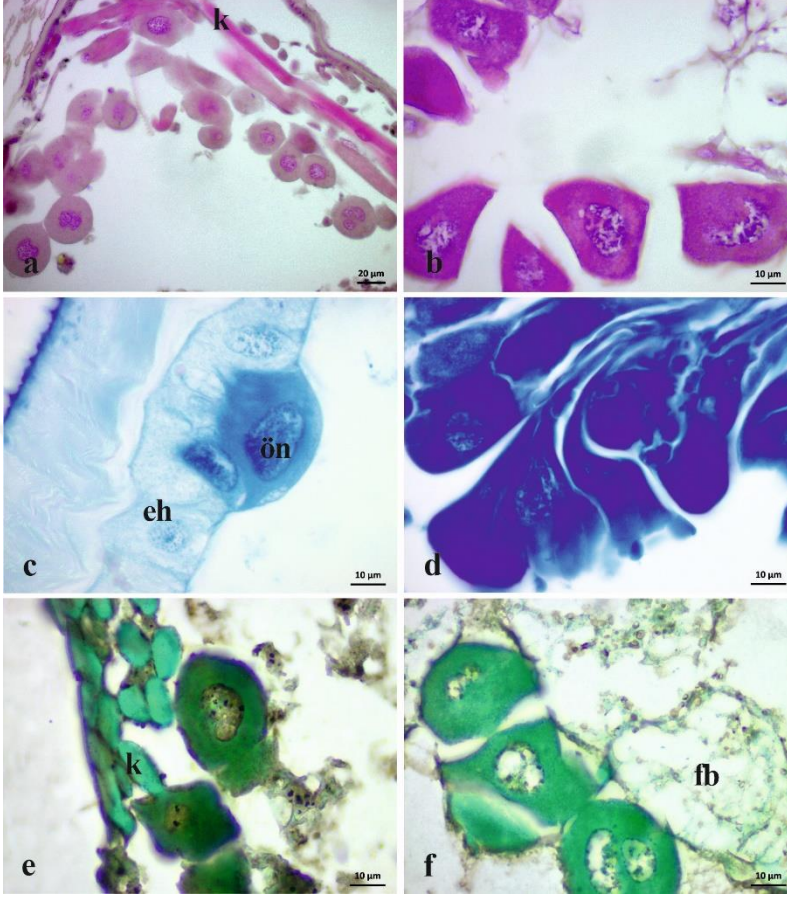
Hücre sınırları ayırt edilemeyen trofositlerin nükleusları, sitoplazmalarını dolduran iri yağ damlacıkları tarafından sıkıştırılmıştır (Şekil 4.30).



**Şekil 4.30.** *B. mori* ergin erkeğine ait fat body hücre yapısının Mayer H-E ile gösterilmesi. **a**) abdomen başı, **b**) abdomen sonu. **h**; hemosit, **k**; kas, **ö**; önosit.



Yapılan histolojik ve histokimyasal boyamalar sonucunda farklı boyutlardaki önositlerin integümentin altında yer aldığı çeşitli evrelerde net bir şekilde tespit edilmiştir (Şekil 4.31).



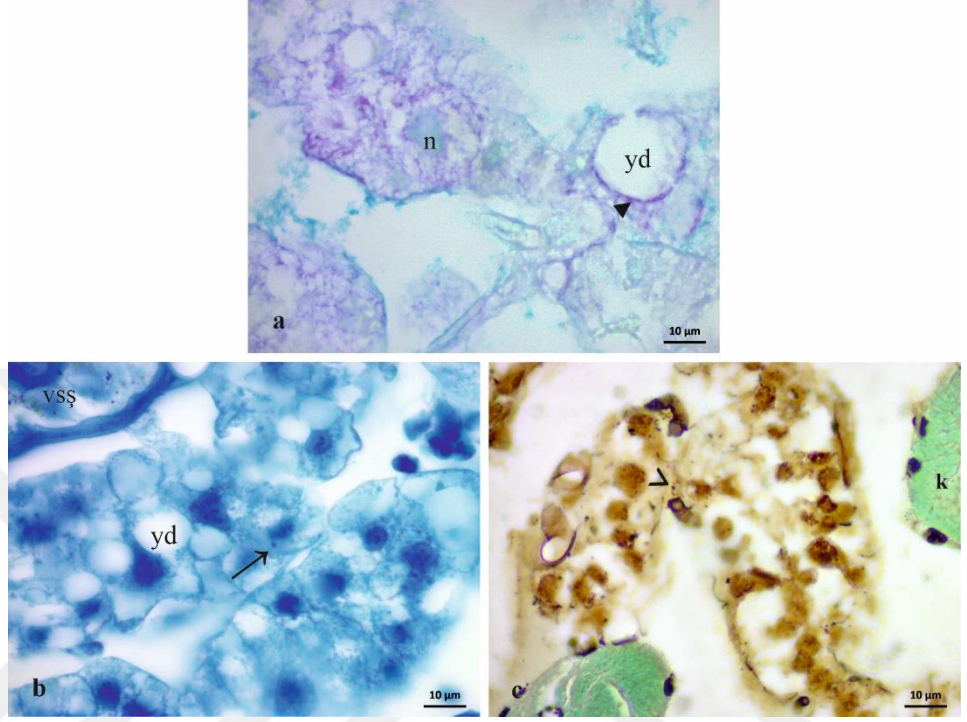
**Şekil 4.31.** *B. mori*'nin farklı evrelerindeki önositlerin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi. **a** ve **b**) Mayer H-E (pupa 10. gün abdomen başı ve sonu), **c** ve **d**) Merkürük bromfenol mavisi, **e** ve **f**) Gümüş nitrat (pupa 10. gün abdomen başı ve sonu). **eh**: apidermis hücreleri, **fb**: fat body, **k**: kas, **ön**: önosit nukleusu.

### 4.3 Makromoleküler Bulgular

Trofositlerde depolandığı bilinen glikojen içeriğini belirlemek amacıyla yapılan alsıyan mavisi-PAS boyaması sonucunda, glikojen içeriği bazı evrelerde pembe-mor renkli granüller olarak görülürken bazı evrelerde ise yoğun lekeler şeklinde görülmüştür. Merkürük bromfenol mavisi boyaması sonucunda belirlenen protein granüllerinin farklı boyutlarda olabildiği görülmüştür. Ayrıca ürik asit granülleri, gümüş nitrat boyaması ile belirlenerek tüm trofositlerde bulunduğu ortaya konulmuştur. Yapılan üç histokimyasal boyama sonucunda da yağ damlacıkları negatif reaksiyon göstererek boş vakuoller şeklinde belirlenmiştir.



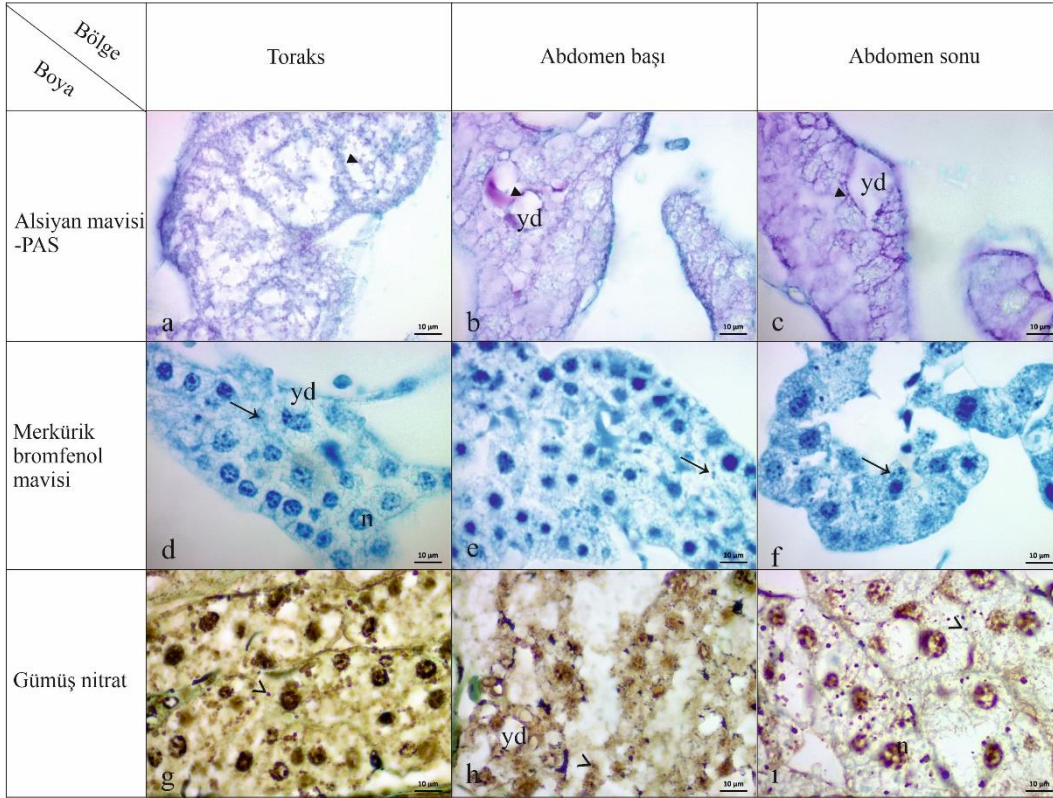
İpek böceklerinin yumurtadan çıkmasından itibaren takip edilen gelişim evreleri boyunca glikojen granülleri ilk defa 3. instarda birikmeye başlamıştır (Şekil 4.32a). Protein ve ürik asit granüllerinin birikimi ise 4. instardan itibaren belirlenmiştir (Şekil 4.32b ve c).



**Şekil 4.32.** *B. mori*'nin trofositlerinde depolanmaya başlayan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi. **a)** 3. instar 0. gün (alsiyan mavisi-PAS), **b)** 4. instar 0. gün (merkürük bromfenol mavisi), **c)** 4. instar 0. gün (gümüş nitrat), **k**;kas, **n**; nukleus, **vss**; ventral sinir şeridi, **yd**; yağ damlacığı, **▶**; glikojen, **→**; protein, **>**; ürik asit.

**Larval evre:** 5. instarın 0. günündeki ipek böceklerinin torakslarında biriken glikojen içeriğinin, küçük granüller şeklinde trofositlerin sitoplazmalarında yayıldığı görülmüştür (Şekil 4.33a). Abdomen başı ve sonundaki glikojen depoları ise granülden farklı olarak lekeler şeklinde olup, genellikle yağ damlacıklarının çevresinde bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 4.33b ve c). Abdomen sonundaki glikojen yoğunluğunun, toraks ve abdomen başına göre daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil 4.33b ve c).

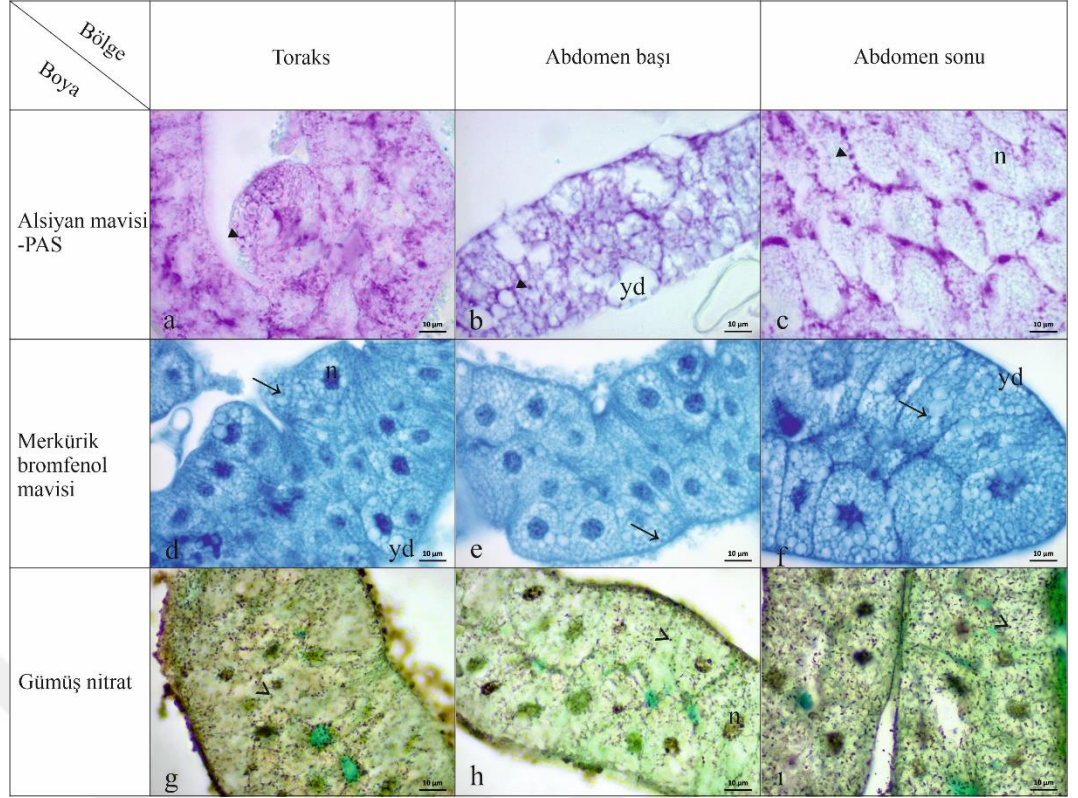
Trofositlerdeki protein granülü yoğunluğunun böceğin anteriorundan posterioruna gidildikçe arttığı ve bu granüllerin genellikle yağ damlacıklarının çevresinde bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 4.33d, e ve f). Ürik asit granülleri de seçilen bütün bölgelerde genellikle sitoplazmada dağınık halde ve irili ufaklı boyutlarda biriktiği görülmüştür (Şekil 4.33g, h ve i).



**Şekil 4.33.** *B. mori* larvası 5. instar 0. gününe ait seçilen bölgelerdeki trofositlerde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi. **yd**; yağ damlacığı, **▶**; glikojen, **→**; protein, **>**; ürik asit.

5. instar 4. gündeki bireylerin bütün bölgelerinde bulunan trofositlerinde, 0. günde bulunan trofositlere göre glikojen, protein ve ürik asit yoğunluğunda bir artış saptanmıştır (Şekil 4.33 ve 4.34). Toraks ve abdomen boyunca yağ damlacıklarının etrafında biriken glikojenlerin yoğun, yuvarlak lekeler şeklinde olduğu ve abdomen sonundaki glikojen içeriğinin fat body hücrelerinin periferinde yoğunlaştığı dikkat çekmiştir (Şekil 4.34a, b ve c).

Bu evrede küçük boyutlu protein granüllerinin abdomen sonunda en yoğun olmak üzere üç bölgede de bulunduğu görülmüştür (Şekil 4.34d, e ve f). Ürik asit granüllerinin bir önceki evreye göre, tüm bölgelerdeki yoğunluğunun artışı fakat boyutlarının küçülmesi dikkat çekmiştir. Abdomen başına göre toraks ve abdomen sonunda yoğun olarak boyandığı belirlenmiştir (Şekil 4.34g, h ve i).

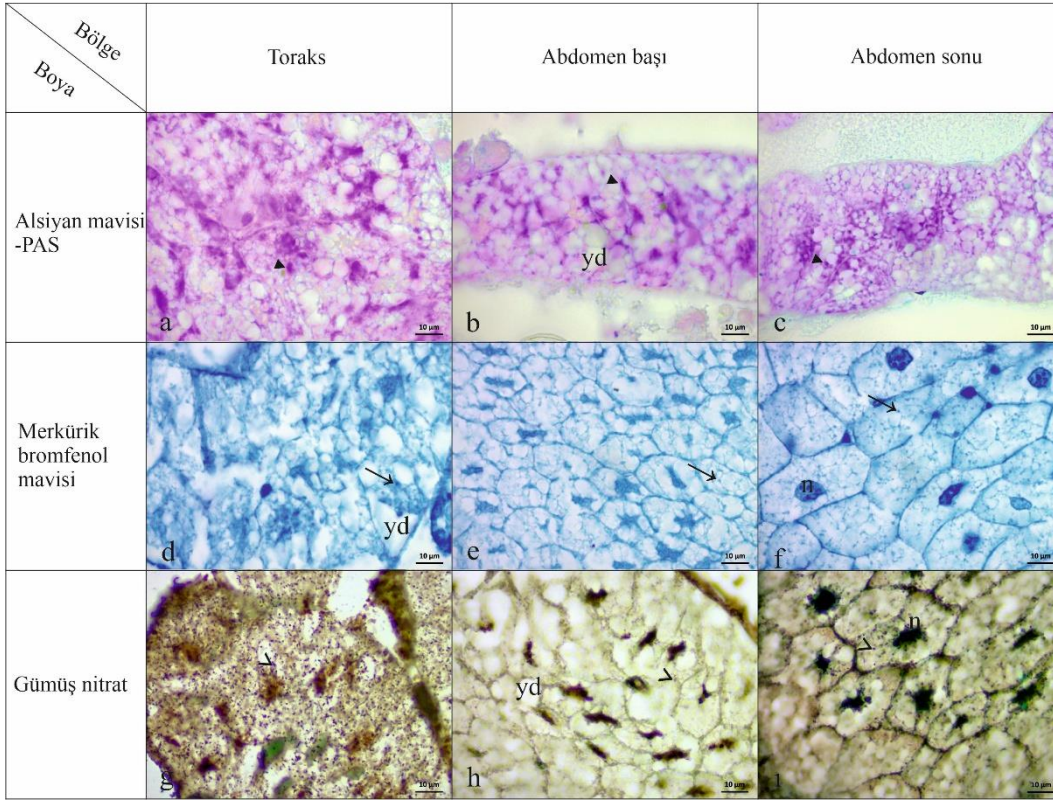


**Şekil 4.34.** *B. mori* larvası 5. instar 4. gününe ait seçilen bölgelerdeki trofositlerde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boya ile gösterilmesi. **n**; nükleus, **yd**; yağ damlacığı, **▲**; glikojen, **→**; protein, **>**; ürik asit.

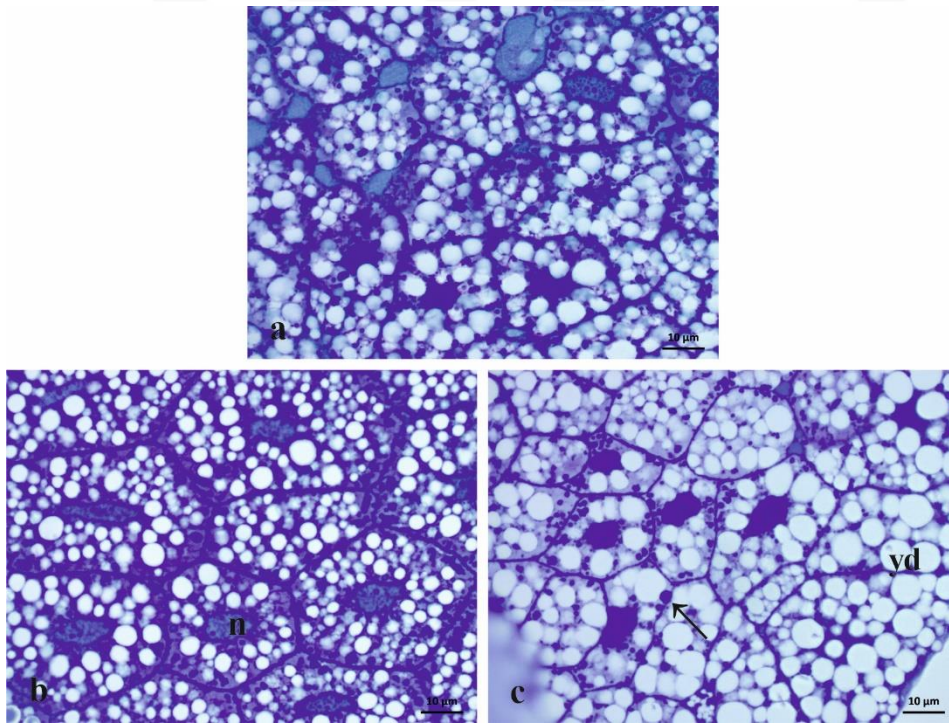
5. instarın 8. gününe ait böceklerin trofositlerinde, yağ damlacıklarının çevresinde bulunan glikojen birikimi toraks ve abdomen boyunca yoğun olarak görülmüştür (Şekil 4.35a, b ve c). Bu evrede küçük boyutlu olarak bulunan protein granüllerinin en yoğun olduğu bölge, bir önceki evrede olduğu gibi abdomen sonu olarak belirlenmiştir (Şekil 4.35d, e, f, 4.36c, 4.37e ve f). Ürik asit içeriğinin toraks ve abdomen sonunda yoğun ve iri granüller şeklinde, abdomen başında ise küçük boyutlu olarak biriktiği tespit edilmiştir (Şekil 4.35g, h ve i).

Ayrıca bu evrede trofositlerin içindeki irili ufaklı çok sayıda yağ damlacıkları toluidin boyasıyla da çok net bir şekilde görülmüştür (Şekil 4.36).

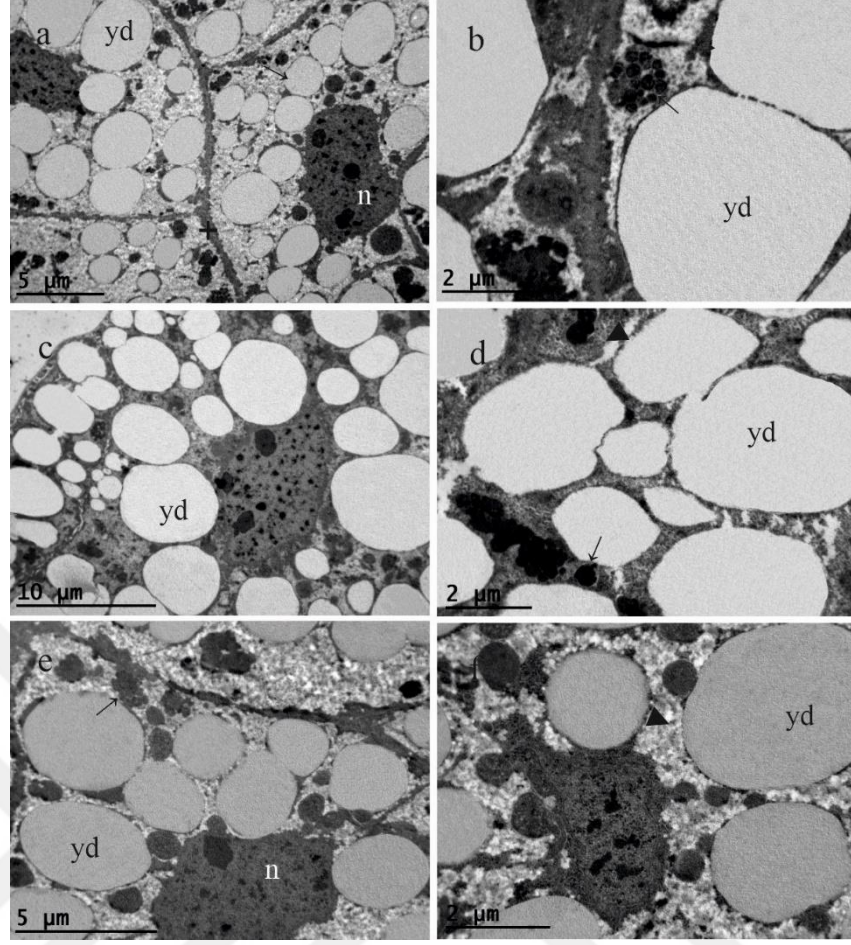




**Şekil 4.35.** *B. mori* larvası 5. instar 8. gününe ait seçilen bölgelerdeki trofositlerde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi. **n**; nükleus, **yd**; yağ damlacığı, **▲**; glikojen, **→**; protein, **>**; ürik asit.



**Şekil 4.36.** *B. mori* larvası 5. instar 8. güne ait trofositlerde biriken yağ damlacıklarının toluidin mavisi ile gösterilmesi. **a)** toraks, **b)** abdomen başı, **c)** abdomen sonu. **n**; nükleus, **yd**; yağ damlacığı, **→**; protein.

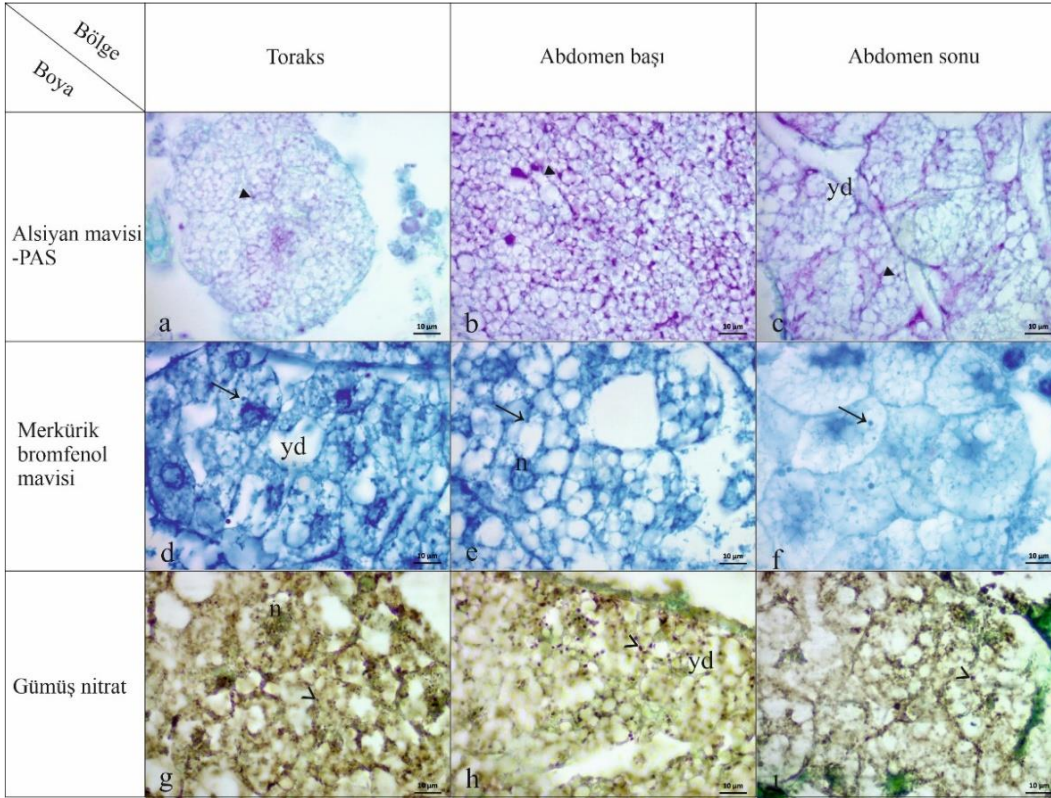


**Şekil 4.37.** *B. mori* larvası 5. instar 8. gününe ait trofositlerin ince yapısı. **a** ve **b**) toraks, **c** ve **d**) abdomen başı, **e** ve **f**) abdomen sonu, **n**; nukleus, **yd**; yağ damlacığı, **▴**; glikojen, **→**; protein, **+**; hücre zarı.

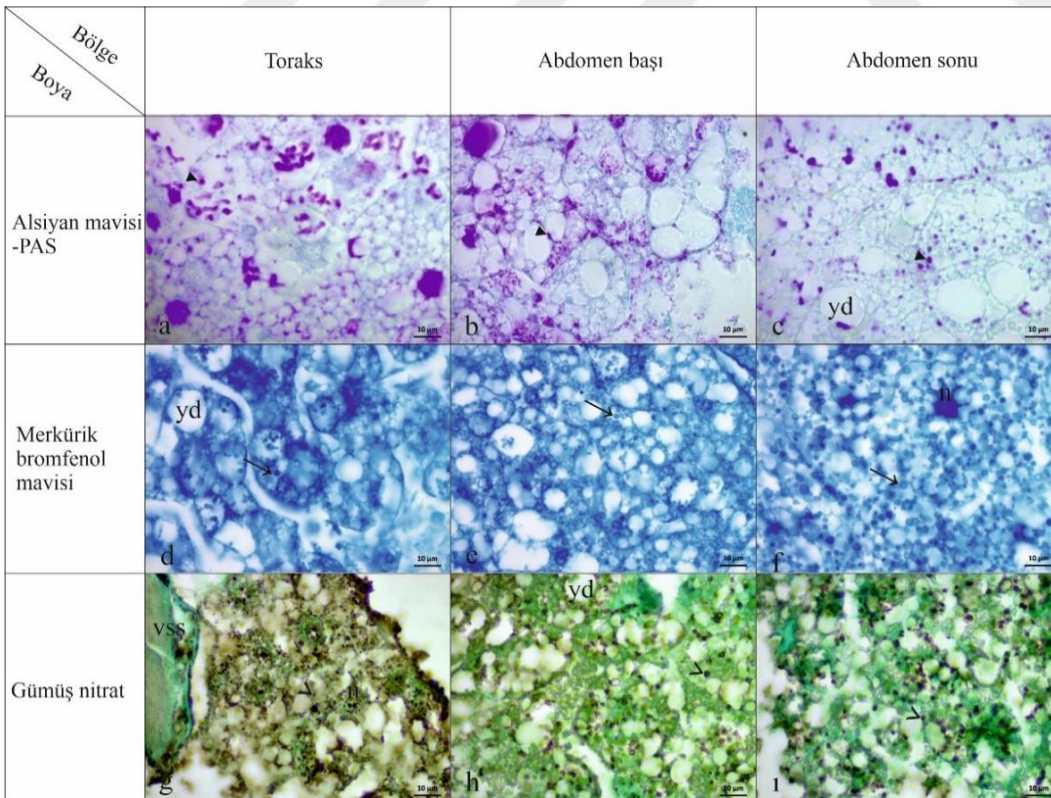
**Pupal evre:** Glikojen birikimi pupal evre boyunca lekeden ziyade granül formunda karşımıza çıkmıştır. Diğer depo moleküllerinin yapısında bir farklılık belirlenememiştir.

Prepupa toraks ve abdomen bölgelerindeki PV fat body hücrelerinin glikojen, protein ve ürik asit içeriği bakımından PF fat body hücrelerine göre daha zengin olduğu uygulanan tüm histokimyasal boyaların baskınlığından ayırt edilebilmektedir (Şekil 4.38 ve 4.39). PF fat body hücrelerinin glikojen granüllerinin, incelenen üç bölge ele alındığında, abdomen başında yoğun olarak biriktiği belirlenmiştir (Şekil 4.38a, b ve c). Protein granülleri hem toraks hem de abdomen başında yoğunlaştığı görülmüştür (Şekil 4.38d, e ve f). Ürik asit birikimi ise bütün bölgelerde benzer görünümde (Şekil 4.38g, h ve i).





**Şekil 4.38.** *B. mori* prepupasının seçilen bölgelerindeki PF fat body hücrelerinde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi. **n**; nukleus, **yd**; yağ damlacığı, **▶**; glikojen, **→**; protein, **>**; ürik asit.



**Şekil 4.39.** *B. mori* prepupasının seçilen bölgelerindeki PV fat body hücrelerinde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi **n**; nukleus, **vs**; ventral sinir şeridi, **yd**; yağ damlacığı, **▶**; glikojen, **→**; protein, **>**; ürik asit.

PV fat body hücrelerinin irili ufaklı glikojen granülleri tüm bölgelerde yoğun olarak bulunduğu belirlenirken (Şekil 4.39a, b ve c), protein ve ürik asit granüllerinin ise toraks bölgesine kıyasla abdomen bölgesinde yoğunlaştığı belirlenmiştir (Şekil 4.39d- 1).

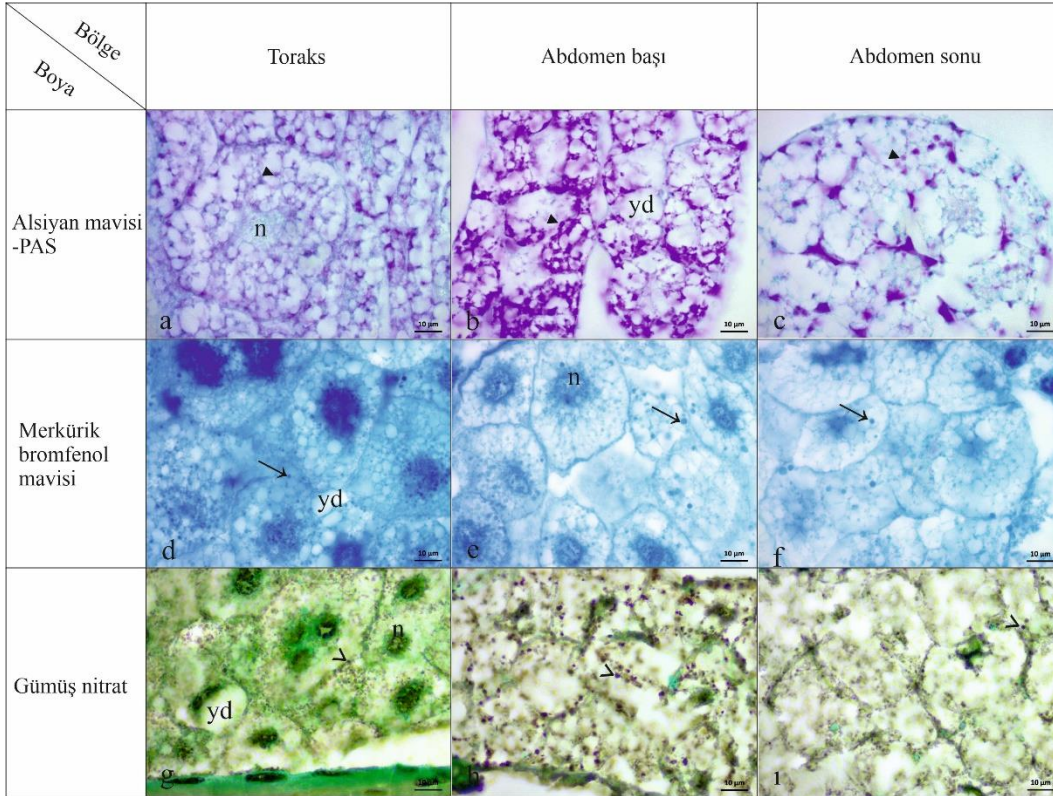
Ayrıca prepupanın bütün bölgelerindeki PF ve PV fat body hücrelerinde biriken irili ufaklı yağ damlacıklarının yoğunluğu larval evreye göre daha da artmıştır (Şekil 4.38 ve 4.39).

Pupanın 0. gününe ait bireylerin bütün bölgelerindeki PF fat body glikojen içeriği bakımından ele alındığında en yoğun bölgenin, prepupa evresinde olduğu gibi, abdomen başı olduğu belirlenmiştir. Toraks ve abdomen sonu bölgelerinde daha küçük granüller şeklinde olduğu görülmüştür (Şekil 4.40a, b ve c). Protein granülleri bakımından incelenen bütün bölgelerdeki yoğunluk benzerlik göstermiştir (Şekil 4.40d, e ve f). Ürik asit içeriği ise glikojen birikimiyle benzerlik göstererek abdomen başında yoğunlaştığı belirlenmiştir (Şekil 4.40g, h ve 1). Prepupa evresine göre protein ve ürik asit granüllerinin yoğunluğundaki artış dikkat çekmiştir.

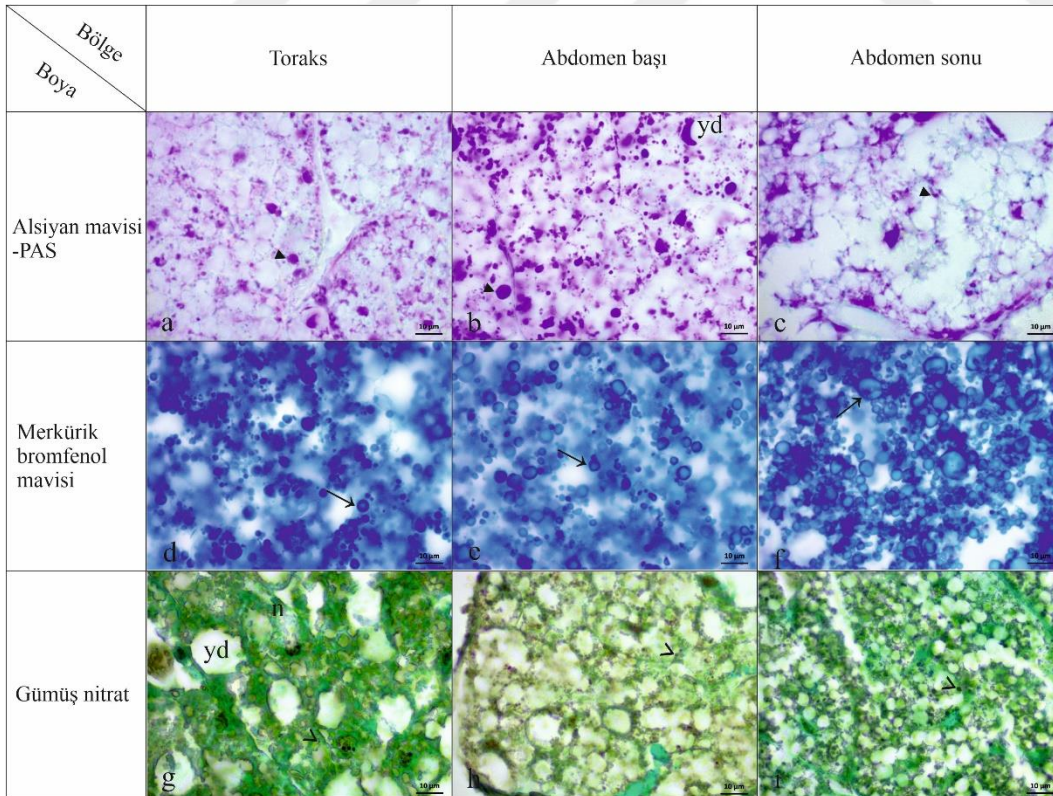
PV fat bodydeki glikojen içeriği bakımından en yoğun olarak boyanan bölge toraks ve abdomen sonundan ziyade, abdomen başı olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.41a, b ve c). Protein ve ürik asit granüllerinin en iri ve en yoğun olduğu bölge abdomen sonu bölgesi olmak üzere, tüm bölgelerde yoğun olarak bulunduğu görülmüştür.

Ayrıca tüm bölgelerde iri yağ damlacıkları en fazla görünen depo molekülüdür (Şekil 4.42 ve 4.43). Larval evrenin son gününe göre toraks ve abdomen başındaki yağ damlacıklarının boyutları daha da artmıştır (Şekil 4.36a, b, 4.42a ve b).



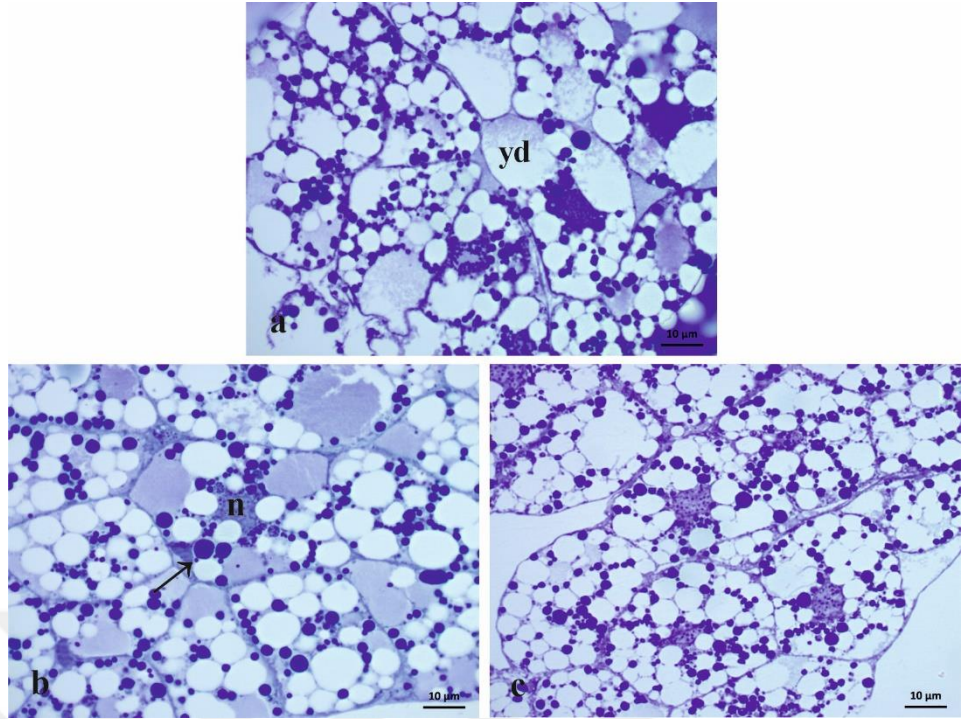


**Şekil 4.40.** *B. mori* pupası 0. gününde bireylerin seçilen bölgelerdeki PF fat body hücrelerinde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi. **n**; nukleus, **yd**; yağ damlacığı, **▲**; glikojen, **→**; protein, **>**; ürik asit.

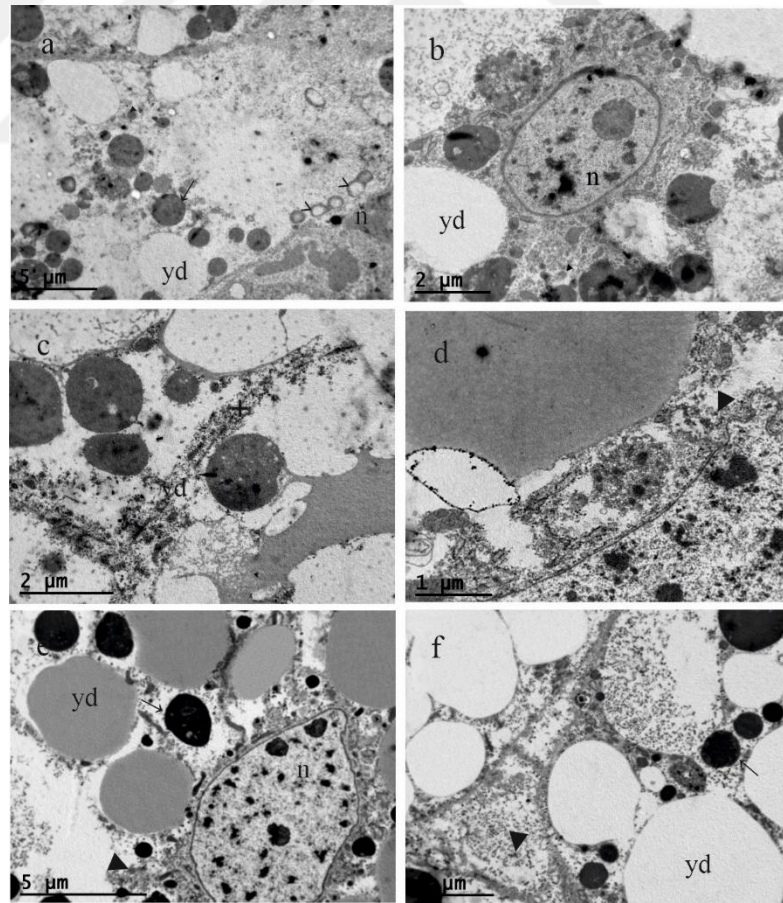


**Şekil 4.41.** *B. mori* pupası 0. gününde bireylerin seçilen bölgelerdeki PV fat body hücrelerinde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi. **n**; nukleus, **yd**; yağ damlacığı, **▲**; glikojen, **→**; protein, **>**; ürik asit.



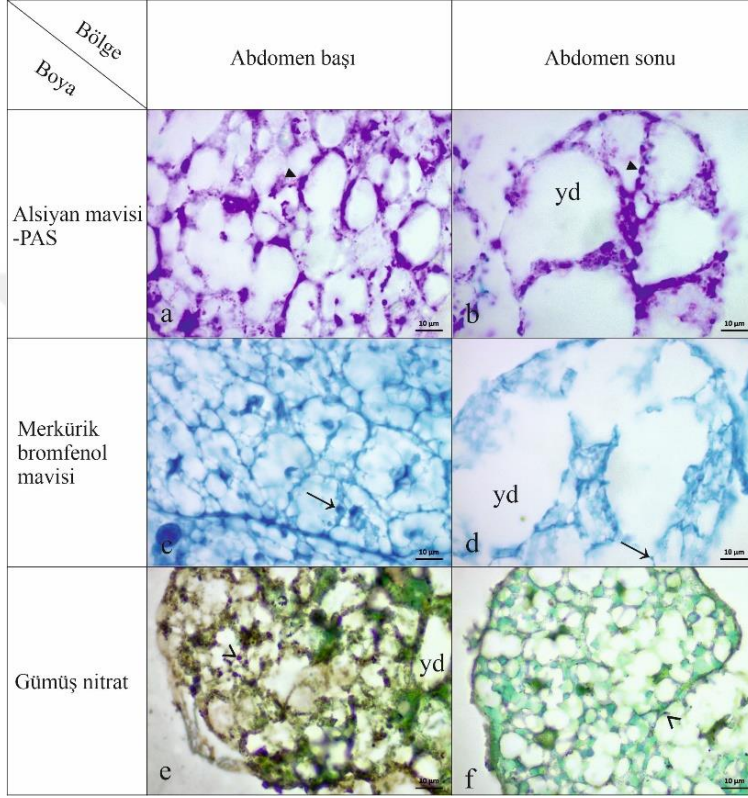


Şekil 4.42. *B. mori* pupası 0. güne ait trofositlerin toluidin mavisi ile gösterilmesi. a) toraks, b) abdomen başı, c) abdomen sonu. n; nukleus, yd; yağ damlacığı.



Şekil 4.43. *B. mori* pupası 0. güne ait trofositlerinin ince yapısı a ve b) toraks, c ve d) abdomen başı, e ve f) abdomen sonu, n; nukleus, yd; yağ damlacığı, ►; glikojen, →; protein, >; ürik asit, +; hücre zarı.

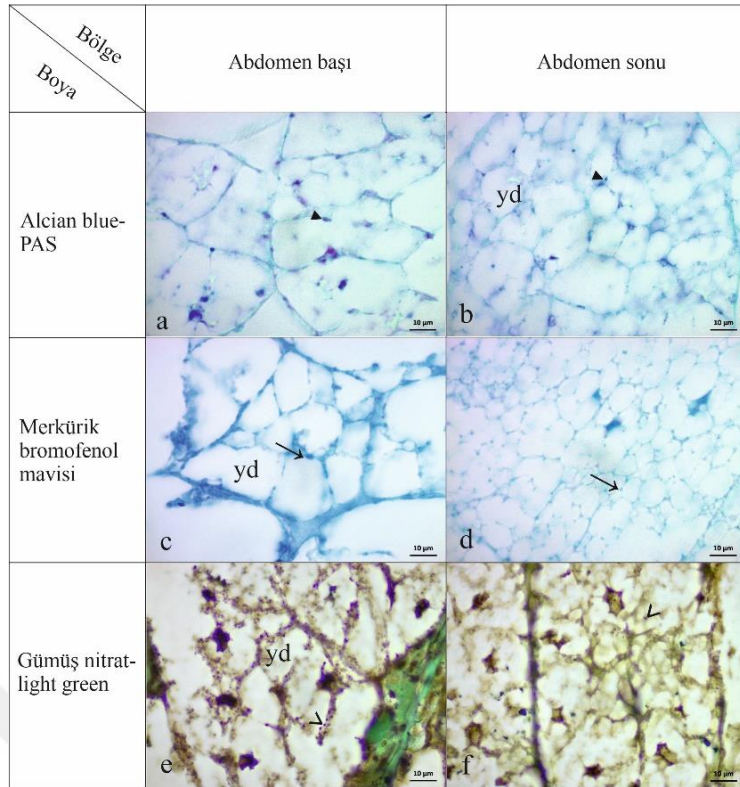
Pupanın 10. gününde abdominal fat bodynin geneli ele alındığında glikojen, protein ve ürik asit granüllerinin önceki evrelere göre büyük oranda azaldığı görülmüştür. Bu evrede en fazla bulunan depo moleküllerin sırasıyla yağ, glikojen, ürik asit ve protein olduğu yapılan boyamalara verdikleri reaksiyonun yoğunluğu sayesinde tespit edilmiştir. Yağ damlacıkları abdomen sonunda yoğun olmak üzere iri vakuoller olarak görülmüştür. (Şekil 4.44).



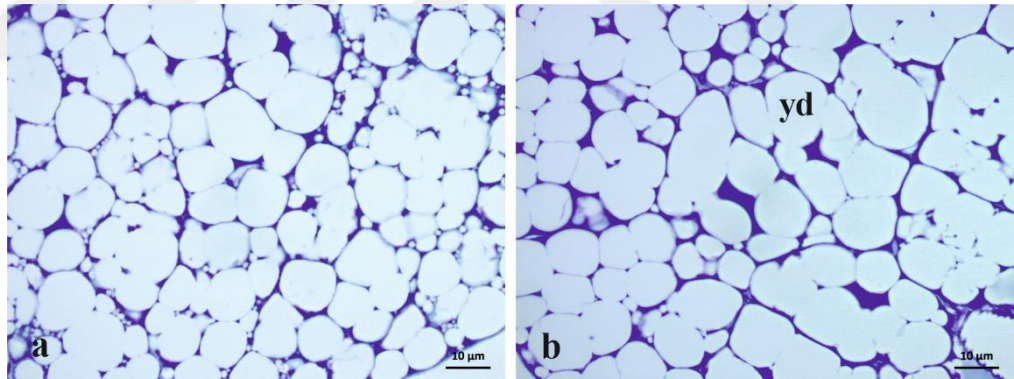
**Şekil 4.44.** *B. mori* pupası 10. gününde seçilen bölgelerdeki fat body hücrelerinde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi. **yd**; yağ damlacığı, **▲**; glikojen, **→**; protein, **>**; ürik asit.

**Ergin evre:** PF ve PV ayrımı yapılamayan bu evredeki trofositlerde, önceki evrede az miktarda bulunan protein moleküllerinin ve yoğunluğunu koruyan glikojen granüllerinin neredeyse tamamının yok olduğu görülmüştür. Ürik asit granülleri az da olsa varlığını sürdürmektedir (Şekil 4.45). Diğer depo molekülleri önceki evreye göre daha da azalırken, yağ damlacıkları daha da büyüyüp en net görülebilen depo molekülü olmuştur (Şekil 4.46 ve 4.47).

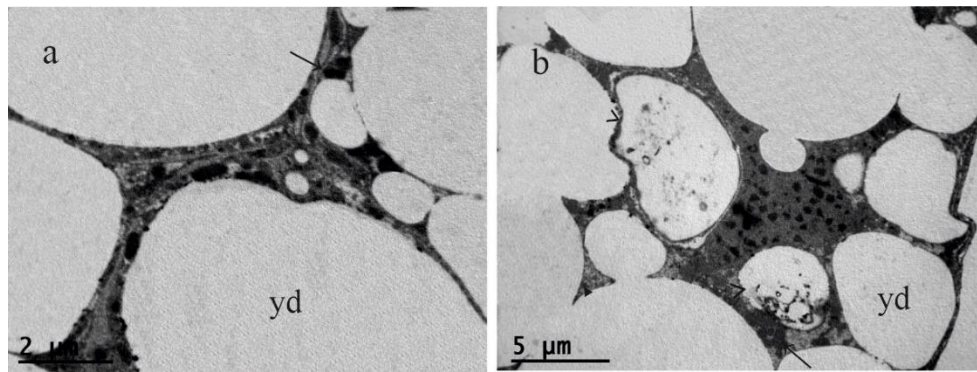




**Şekil 4.45.** *B. mori* ergin erkeğinin abdomen başı ve abdomen sonu bölgelerindeki trofositlerde depolanan glikojen, protein ve ürik asit içeriklerinin farklı histokimyasal boyalarla gösterilmesi. **yd**; yağ damlacığı, **▶**; glikojen, **→**; protein, **>**; ürik asit.



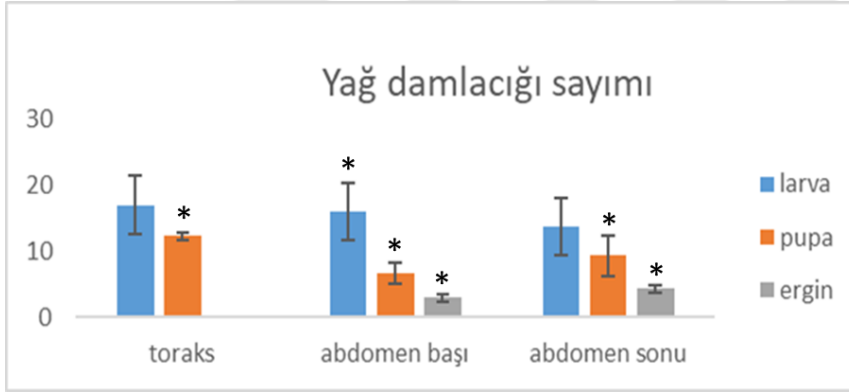
**Şekil 4.46.** *B. mori* ergin erkeğinin trofositlerinin toluidin mavisi ile gösterilmesi. **a)** abdomen başı, **b)** abdomen sonu.



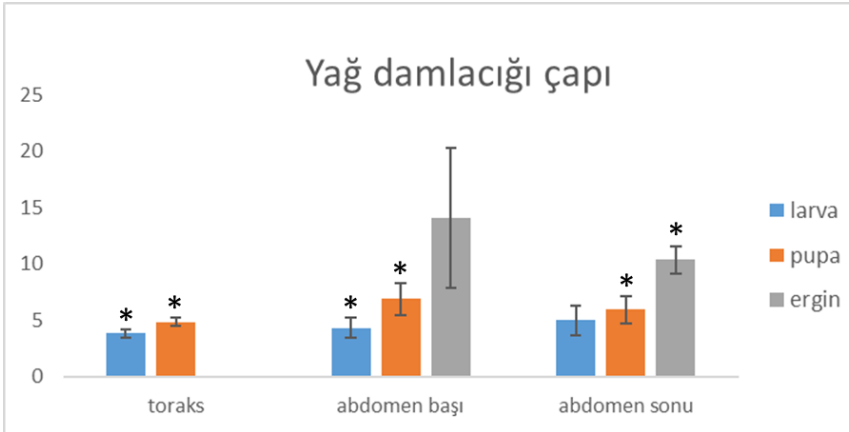
**Şekil 4.47.** *B. mori* ergin erkeğinin trofositlerinin ince yapısı. **a)** abdomen başı, **b)** abdomen sonu, **→**; protein, **>**; ürik asit.

İnce kesitlerin fotoğrafları üstünde yapılan yağ damlacıklarının sayısının istatistiksel analizleri sonucunda larva ile pupa evrelerinin sadece abdomen başı bölgeleri arasında (Şekil 4.36b, 4.42b), pupa ile ergin evrelerinin ise abdomen başı ve sonu bölgeleri arasında (Şekil 4.42b, c, 4.46b ve c) anlamlı bir fark bulunmuştur. Ayrıca larvanın toraks, abdomen başı ve sonu değerlendirildiğinde üç bölge arasında fark bulunamamıştır. Pupanın her üç bölgesi kendi içinde karşılaştırıldığında sadece toraks ve abdomen başı bölgeleri arasında anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir. Erginlerde ise abdomen başı ve sonu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 4.48).

Yağ damlacıklarının çap ortalamaları için yapılan analizler sonucunda larva ile pupa evrelerinin toraks ve abdomen başı bölgeleri arasında (Şekil 4.36a, b, 4.42a ve b), pupa ile ergin evrelerinin ise sadece abdomen sonu bölgeleri arasında (Şekil 4.42c ve 4.46c) anlamlı bir fark bulunmuştur. Ayrıca larva, pupa ve erginin kendi içlerinde toraks, abdomen başı ve abdomen sonu bölgeleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 4.49).



Şekil 4.48. *B. mori*'nin gelişim evrelerine bağlı olarak yağ damlacıklarının sayısındaki değişimler ( $p < 0,05$ ).



Şekil 4.49. *B. mori*'nin gelişim evrelerine bağlı olarak yağ damlacıklarının çapındaki değişimler ( $p < 0,05$ ).

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Farklı böcek türlerinde farklı morfolojiye sahip olan fat body tabaka, şerit veya kütle şeklinde, ayrıca beyaz, sarı, kahverengi, mavi veya yeşil renkte olabilmektedir (Keeley, 1985; Haunerland and Shirk, 1995). *Rhinocricus padbergi* türünde genel yapıya benzer şekilde fat body beyazımsı renkli ve trofositlerinin farklı lokasyonlardaki nukleusları gösterilmiş, ayrıca belirgin hücre zarları ve sıralanmış hücre yapıları da belirlenmiştir (Souza and Fontanetti, 2012).

Holometabol bir böcek olan *Spodoptera litura* türünün postembriyonik gelişim evrelerine bağlı olarak larval fat bodynin ince şeritler şeklinde olduğu, prepupal evrede daha yoğunlaşarak pupal evrede kompakt yapıya ulaştığı ve ergin fat bodynin yeniden düzenlenerek kompakt parmaksı lop yapısını oluşturduğu belirlenmiştir (Chauhan et al., 2017). *Bombyx mori*'de de postembriyonik gelişim evrelere göre sadece larval evredeki fat body yapısı *S. litura* türü ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.1a-ş.).

Fat body, sinir, kas ve trake sistemi ile gonadlar, malpighi tübülleri ve hemolenf gibi hayati dokularla ile yakından ilişkilidir (Resh and Carde, 2003). Carvalho ve ekibi (2013) *Anticarsia gemmatalis* türünün larval fat body yapısını araştırarak hemosöl ve diğer organlarla ilişkili, trakeler tarafından çevrelenmiş, beyaz renkli, süngerimsi bir yapıda olduğunu göstermişlerdir. *B. mori* larvalarındaki fat bodynin ise, diğer organlarla olan ilişkisi ve rengi bakımından *A. gemmatalis* benzerliği ortaya çıkarılmıştır (Şekil 4.1, 4.4, 4.5, 4.6, 4.8, 4.9, 4.10, 4.12, 4.13, 4.14).

Hemolenf içinde süspansiyon halinde bulunan ve mezodermal kökenli olan fat body böceklerin vücudundaki konumu dolayısıyla periferik (PF) fat body ve perivisseral (PV) fat body olarak adlandırılmaktadır. PF fat body integümentin hemen altında ve kasların yakınında bulunurken, PV fat body bağırsak ve gonadların etrafında bulunur (Resh and Carde, 2003; Jensen and Borgesen, 2000). PF fat body daha yoğun depolama aktivitesi gösterse de, PV fat body biyosentetik olarak daha aktif olup genel olarak her ikisinin de hayati öneme sahip görevleri bulunmaktadır (Keeley, 1985). Fat bodynin lokalizasyonuna göre farklılaşan görevleri dokunun sitolojik görünümünü de etkileyebilmektedir (Arrese and Soulages, 2010). Bu yapısal farklılıklar bazı yaprak kesici karıncalarla (Roma et al., 2006), *Leptinotarsa decemlineata* (Loof and Lagasse, 1970), *A. gemmatalis* (Carvalho et al., 2013) ve *R. padbergi* (Souza and Fontanetti, 2012) türleri ile

yapılan çalışmalarda ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca Wigglesworth, (1942) tarafından sivrisinek larvalarıyla ilgili yapılan bir çalışmada PF fat body tabakasının yassı, tek tabaka hücrelerden oluştuğunu ve tüm segmentlerde bulunduğunu, PV fat bodynin ise toraksta küçük birkaç lop şeklinde bulunduğunu belirlemiştir. Fat bodynin PF ve PV yapısal farklılığı, *B. mori*'nin pupa evresi boyunca ortaya konmuştur (Şekil 4.16, 4.17, 4.18, 4.20, 4.21, 4.22, 4.26). Bazı türlerde fat bodynin PF ve PV ayrımı yapılabilmemesine rağmen *Aedes aegypti* erginlerinde vücudun dorsal, ventral ve laterallerine dağılan ve abdominal boşluk boyunca amorf halde sadece PF fat bodynin varlığı gösterilmiştir (Martins and Pimenta, 2008).

Böceklerin tüm yaşam evrelerinde genellikle tek bir doku olarak bulunan fat body karbonhidrat, yağ, protein metabolizması ve depolanması, hemolenf şekeri ve proteinlerinin sentezi-düzenlenmesi, büyüme faktörlerinin üretilmesi, ekdizonun 20-hidroksiekdizona dönüştürülmesi, antimikrobiyal peptid üretilmesi ve azot metabolizmasının detoksifikasyonu süreçlerinden sorumludur (Jensen and Borgesen, 2000; Resh and Carde, 2003; Arrese and Soulages, 2010; Azeez et al., 2014; Gullan and Cranston, 2014; Li et al., 2019).

Fat bodynin hayati öneme sahip bu fonksiyonlarını yerine getiren temel hücreleri trofositlerdir. Yoğun metabolik aktiviteye sahip olan bu hücreler sitoplazmalarında fazlaca bulunan yağ damlacıkları ile karakterize olurlar (Jensen and Borgesen, 2000; Resh and Carde, 2003; Arrese and Soulages, 2010).

Fat body ile ilişkili hücreler olan önositler ektoderm kökenlidirler. Böcek gövdesi içindeki yeri, türlere veya gelişim evresine bağlı olarak değişir. Abdominal fat body hücreleri ile ilişkili olduğu zaman, tek veya kümelenmiş hücreler olarak düzenlenir. *Aedes aegypti* (Wigglesworth, 1942) ve *Toxorhynchites theobaldi* (Martins and Ramalho-Ortiago, 2012) larvalarında bulunan önositler, epidermis ile ilişkili olup PF fat body hücreleri arasında bulunur. *D. melanogaster* larvalarında önositler her bir segmentinin lateral epidermisine bağlı olarak 4-9 hücreli gruplar oluşturur. Ayrıca yumurtadan çıkmasından sonra larval evre boyunca hiç bölünmezler ve sadece büyürler (Gould et al., 2001). *Anopheles maculipennis*'te küçük ve büyük boyutlu olmak üzere iki gruba ayrılır. Bu türün larvalarının ilk 7 abdominal segmentinde büyük önositler kümeler oluştururken, küçük önositler ise bu kümelerin yakınlarında epidermin hemen altında yer alır (Imms, 1908). *Apis mellifera*'nın erginlerinde de, farklı önosit grupları lokalizasyonlarına ve boyutlarına göre ayırt edilebilmiştir (Hepburn et al., 1991). Turgay-İzzetoğlu ve Gülmez (2019) *Culex pipiens* türünde küçük önositlerin integümentin hemen

altında, trofositlerin ve kasların yakınlarında yer aldığını ve abdomende, tek ya da kümeler halinde bulunan büyük önositlerden daha fazla olduğunu belirlemiştir. *Schistocerca gregaria*'nın tüm gelişim evrelerinde önositlerin subepidermal bölgede daha fazla ve trofositler ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (Coupland, 1975). Önositlerde en fazla polimorfizm *Calpodes ethius* türünde görülmüştür. Bu türde salgı bezlerinin altında bulunan ve deri değiştirme döngüleri aralarında büyüyen kalıcı önositler, sadece deri değiştirme döngüsü sırasında genişleyen ve segmental olarak düzenlenmiş önositler ve pupalaşmadan hemen önce, çok sayıda ortaya çıkan daha küçük subepidermal önositler olmak üzere üç tiptedir (Locke, 1969). *B. mori*'de de farklı gelişim evrelerinde farklı morfolojilerde olan önositler belirlenmiştir (Şekil 4.31).

Fat bodynin diğer yaygın hücre tipi olan ürositler, ürik asit depolamak için özelleşmiş hücrelerdir. Ürositler Collembola, Thysanura, Blattodea'ya ait türlerde ve Apocrita'nın larvalarında bulunmaktadır. Ürositlerin karakteristik özelliği olan ürik asit depoları genellikle kristal formundadır (Chapman., 2013). *Melipona quadrifasciata* (Furtado et al., 2013), *Scoliopteryx libatrix* (Lipovsek et al., 2017), *Nauphoeta cinerea* (Wüest, 1978), *Pachycondyla (=Neoponera) villosa* (Zara and Caetano, 2004), *Periplaneta americana* (Park et al., 2013) türlerinde ve bazı termitlerde (Costa-Leonardo et al., 2013) ürositlerin varlığı tespit edilmiştir.

Diğer bir özelleşmiş fat body hücresi misetositlerdir. Hamam böceklerinde ve bazı hemipterlerde bulunurlar ve sitoplazmalarında bulunan simbiyotik mikroorganizmalarla karakterize olurlar (Resh and Carde, 2003; Arrese and Soulages, 2010). Misetosit ile ilgili çalışmalar *Periplaneta americana* (Wigglesworth, 1987; Park et al., 2013) türü başta olmak üzere bazı hamam böceklerinde ve bazı termit türlerinde (Costa-Leonardo et al., 2013) yapılmıştır.

Pigmentli fat body hücreleri olan kromatositler, şeffaf bir epidermise sahip olan Simuliidae ve Thaumaleidae ailelerine ait bireylerin sucul larvalarının renk desenleri oluştururlar (Dean et al., 1985). Bu hücrelerin *Thaumalea* cinsinde (Hinton, 1958) ve Simuliid larvalarında (Hinton, 1959) yapısı ve fonksiyonları belirlenmiştir.

Hemoglobin sentezlemekle görevli olan fat body hücreleri ise Schin ve arkadaşları (1977) tarafından *Chironomus thummi* türünde açıkça belirtilmiştir.

Bazı böcek türlerinin fat body yapısı farklı hücrelerden oluşurken, bazı böcekler sadece trofositlerden oluşan fat bodyye sahip olabilmektedir (Dean et al., 1985). *Culex pipiens* (Turgay-İzzetoğlu and Gülmez, 2019), *R. padbergi* (Souza and Fontanetti, 2012), *A. gemmatalis* (Carvalho et al., 2013), *Toxorhynchites theobaldi* (Pascini et al., 2011), *Anthonomus grandis* (Cunha et al., 2016), *Lutzomyia longipalpis* ve *Phlebotomus papatasi* (Assis et al., 2014) türlerinde, sivrisinek larvalarında (Wigglesworth, 1942) ve bazı yaprak kesici karıncalarda (Roma et al., 2006) incelenen fat bodynin sadece trofositlerden oluştuğu ortaya konulmuştur. *B. mori*'nin de sadece temel fat body hücresi olan trofositleri içerdiği belirlenmiştir.

Böceklerde embriyogenez ve erken postembriyonik gelişim boyunca poliploid olabilen ve sitoplazmalarında az miktarda inklüzyon bulunan trofositlerin morfolojisi böceğin gelişim aşamalarına bağlı olarak değişebilir (Dean et al., 1985). Henüz olgunlaşmamış evreler boyunca hemolenften alınıp bu hücrelerde depo edilen yağ damlacıkları, glikojen ve protein granülleri, sonraki evreler ve ergin aktiviteleri için enerji deposunu oluşturur (Reash and Carde., 2003).

Daha önce bahsedilen Chauhan ve ekibinin (2017) gerçekleştirdiği *S. litura* türünün postembriyonik gelişim evrelerine bağlı olarak fat bodynin incelenmesi sırasında histolojik analizler de yapılmıştır ve çalışmada ele alınan son larval instara ait fat body merkezi konumlu nukleusa ve sitoplazmalarında çok sayıda yağ damlacığına sahip, büyük ve kübik trofositleri içermektedir. Prepupal evrede ise trofositlerin sitoplazmalarındaki yağ damlacıklarının yanı sıra yoğun granüllerin varlığı belirlenmiştir. Pupal evreye henüz geçenlerin trofositlerinde bu granüllerin yoğunlaştığı ve hücre zarlarının kaybolmaya başladığı; ergin evreye geçenlerde ise yeniden düzenlenen trofositlerin kolayca görülebilen nukleusu belirlenmiştir. Ayrıca sitoplazmik granüllerin sayısının azaldığı görülürken, çok sayıdaki yağ damlacıklarının varlığı da belirlenmiştir.

*S. litura*'nın larval fat bodysine benzer olarak *B. mori*'nin de son larval evresinin 0. günündeki trofositleri merkezi konumlu ve iri bir nukleusa sahiptir. Farklı olarak bu evrede 0. günden 8. güne (son gün) kadar takip edilen ipek böceklerinin, sürekli beslenmesi sonucunda sitoplazmadaki depo moleküllerinin artması nedeniyle nukleuslar sıkışmış, hücrelerin kübik şekilleri bazı bölgelerde hegzagonal bazı bölgelerde ise poligonal olarak değişiklik göstermiştir (Şekil 4.7, 4.11 ve 4.15). *B. mori*'deki pupal fat bodynin PF ve PV olarak ayrımı göz önünde bulundurulduğunda, *S. litura*'nın prepupal ve pupal fat bodysi *B. mori*'nin PV fat



body yapısı ile benzerlik göstermektedir (Şekil 4.19, 4.23 ve 4.27). Bu iki türün ergin fat body yapısı ele alındığında *B. mori*'nin trofosit nukleusunun net bir şekilde görülememesi dışında, yağ damlacıklarının yoğunluğu benzerlik göstermektedir (Şekil 4.30).

Ayrıca *B. mori*'de beslenmenin sonlanmasıyla birlikte integümentin hemen altında yer alan fat bodynin yapısal bütünlüğünün kaybolduğu ve prepupal evre boyunca baskın olan PV fat bodynin pupal evrenin sonunda tamamen yok olduğu görülmüştür. Sumithra ve arkadaşları da (2010) benzer bulgular elde etmiştir.

Costa-Leonardo ve arkadaşlarının (2013) bazı termit türlerindeki fat body hücrelerinin histokimyasal boyanmaları sonucunda, larval gelişimleri sırasında trofositlerin hem sayı hem de hacim olarak artan yağ damlacıkları ve yoğun glikojen deposu içeriğine sahip olduğu, nimfal evrede ise trofosit içeriklerinin en fazla protein açısından zengin olduğu görülmüştür. *Pachycondyla (=Neoponera) villosa*'nın larval trofositleri yine histokimyasal açıdan incelendiğinde karbonhidrat, protein ve yağ boyamalarının pozitif reaksiyon gösterdiği tespit edilmiştir (Zara and Caetano, 2004). *Manduca sexta*'nın gelişim evrelerine göre fat body hücrelerinin büyüklüğünde, yağ ve glikojen depo seviyelerinde bir artış görülmüş, protein ve üratların biriktiği belirlenmiştir. Beslenme sonlanana kadar trofositlerde lipit ve glikojen miktarlarının arttığı ve beslenme bittiğinde glikojen seviyesinin maksimum düzeye ulaştığı PAS boyasının yoğun pozitif reaksiyonu ile görülmüş, prepupal evrede bu düzeyin azaldığı ortaya konulmuştur (Willot, 1988).

*B. mori*'nin histokimyasal analizleri, son larval evrenin 0. günündeki trofositlerin sitoplazmalarında pozitif reaksiyon göstererek varlığı tespit edilen az miktardaki glikojen, protein ve ürat depoları, beslenmenin devam etmesiyle birlikte arttığını göstermiştir. Larval evrenin 4. gününde de bu moleküllerin artışı belirlenmiş, beslenmenin sonlandığı 8. günde ise depo moleküllerinin yoğunluğunun maksimum düzeye çıktığı görülmüştür (Şekil 4.33-4.37). Larval evre boyunca meydana gelen bu artışın temel sebebi holometabol böceklerin, metamorfozu sırasında ve ergin evrede kullanılmak üzere, enerji rezervleri olarak depolanmasıdır.

*M. sexta*'da beslenmenin sonlanmasıyla birlikte yağ damlacıklarının sayısı ve boyutlarının arttığı, proteinlerin ise birikmeye başladığı saptanmıştır. Ayrıca beslenme aşamasında görülmeyen ürik asit granülleri beslenmenin sonlanmasıyla birlikte birikmeye başlamıştır (Willot, 1988). Ürik asitler Lepidoptera üyelerinin

larval ve pupal evrelerindeki tüm fat body hücrelerinde ve sivrisinek larvalarında küçük ürik asit granülleri olarak bulunmaktadır (Chapman, 2013). *B. mori*'de larval evre boyunca ürik asit granüllerinin belirlenmesi bu literatürü destekler niteliktedir (Şekil 4.33-4.35).

*Heliothis zea* hemolenfinde prepupal evre sırasında depolama proteinleri azalırken, fat bodyde bu proteinlerin miktarının arttığı, daha sonra pupal evre boyunca azalarak ölçülemeyecek düzeylere indiği belirlenmiştir (Haunerland et al., 1990). *M. sexta*'nın prepupalarında glikojen miktarında düşüş olduğu (Willot, 1988) yağ birikiminin ise beslenme sonlandıktan sonra düşmeye başladığı bildirilmiştir (Tsuchida and Wells, 1988). Holometabol böceklerde larval gelişim boyunca hemolenfe aktarılan karbonhidrat, protein ve yağlar metamorfoz sırasında kullanılmak üzere trofositler tarafından depolanmaktadır. Bu depo moleküllerinin büyük çoğunluğu prepupal dönemde biriktirilmiştir (Resh and Carde, 2003). *B. mori*'de de prepupal PF ve PV fat bodydeki depo granüllerinin, larval evredeki miktarından daha fazla olduğu belirlenmiştir. Yağ depoları ise içi boş vakuoller şeklinde tespit edilmiş ve larval evreye göre hacimlerinin arttığı görülmüştür (Şekil 4.38 ve 4.39).

*Hyalophora cecropia*'nın larval-pupal deri değişimi sırasında protein granüllerinin maksimum seviyeye ulaştığı, pupa evresi boyunca da bu birikiminin devam ettiği görülmüştür. Metamorfozun başlamasıyla birlikte yağ ve glikojen miktarları hızlıca artmış ve pupal evreye geçinceye kadar kademeli bir şekilde azalmıştır. Ürik asitler ise proteinlerin görüldüğü evreden itibaren küçük boyutlarda görülmüş, daha sonra sayısında ve büyüklüğünde artış görülmüştür (Tojo et al., 1978). Pupal metamorfoz sırasında meydana gelen değişimler için temel enerji kaynağı olan ve larval yaşam boyunca fat bodyde depolanan moleküller bu evre boyunca metabolize olmaktadır. Genellikle metamorfozla ilişkili olan depo protein granülleri ergin dokusunu oluşturmak için pupal evre boyunca yeniden düzenlenir ve ergin evrede tüketilir. *B. mori*'de de pupal evrenin 0. günündeki protein ve glikojen granüllerine göre 10. günde çok az miktarda oluşu metamorfoz sırasında kullanıldıklarının göstergesidir (Şekil 4.40, 4.41, 4.44 ve 4.45).

Ergin fat bodysinde sentezlenen ve depo edilen moleküller ise üreme ve uçuş için kullanılmaktadır. Bu evrede fat body hücreleri büyük yağ damlacıkları, glikojen depoları ve depo protein granülleri içermektedir (Resh and Carde, 2003). Bazı Lepidoptera üyelerinde protein granülleri ergin evrede sadece birkaç gün bulunurken hamam böceklerinin ergin evresi boyunca bulunmaktadır. Yüksek

Dipterlerde larval fat bodyden yeniden oluşan ergin dokusunda da protein granülleri görülmektedir. Fat body yapısında görülen seksüel dimorfizimden kaynaklanan üreme ve uçuş davranışlarında bazı farklılıklar vardır. Ergin erkek bireylerin trofosit sitoplazmalarında büyük yağ damlacıkları ve glikojen depoları ile birlikte az miktarda ER görülür. Ergin *Hyalophora*'nın erkek bireylerinde iri yağ damlacıkları, eş arayışı sırasındaki uçuş davranışı için ihtiyacı olan enerjiye kaynak oluşturmaktadır (Dean et al., 1985). Aktif uçuş davranışı göstermeyen ergin *B. mori* erkeklerinde ise iri yağ damlacıklarının varlığı üreme sırasında kullanılacağını düşündürmektedir (Şekil 4.46, 4.47 ve 4.48).

Sonuç olarak fat body histolojisi ile ilgili bir çok literatür incelenmiş ve *B. mori* fat bodysinin postembriyonik gelişim evrelerindeki yapısının ve makromoleküler içeriğinin histolojisi ve histokimyasal incelemesinin bir arada olduğu bir kaynağa rastlanmamıştır. Bu eksikliğin yerinin doldurulması amacıyla, ilk defa tek bir çalışma altında larva, pupa ve ergin olmak üzere tüm evrelerdeki fat body morfolojisi ve konumu gelişime bağlı olarak incelenmiş, fat body hücre tipleri ve fat body ile ilişkili hücre tipleri (trofositler ve önositler) histolojik olarak belirlenmiştir. Ayrıca larval evre boyunca depolanan glikojen, yağ, protein ve ürik asit içeriği çeşitli histokimyasal tekniklerle belirlenmiş ve bu moleküllerin pupal evre boyunca kullanılarak azaldığı görülmüştür.

Memelilerdeki yağ dokuya eş değer fonksiyonları bulunan ve endokrin fonksiyonlara sahip olan fat body yapısının ve hücresel içeriğinin bilinmesinin yağ doku ile ilişkili olarak görülen obezitenin ve endokrin bir rahatsızlık olan diyabetin araştırılıp tedavi yöntemleri için model doku olarak kullanılmasını teşvik edici olduğu düşünülmektedir.

**KAYNAKLAR DİZİNİ**

**Arrese, E.L and Soulages, J.L.**, 2010, Insect fat body: energy, metabolism, and regulation, *Annual Review of Entomology*, 55:207–225 pp. doi:10.1146/annurev-ento-112408-085356.

**Assis, E.A., Malta, J., Pimenta, P.F.P., Ramalho-Ortigao, J.M., Martins, G.F.**, 2014, The characterization of the fat bodies and oenocytes in the adult females of the sand fly vectors *Lutzomyia longipalpis* and *Phlebotomus papatasi*, *Arthropod Structure & Development*, 43(5), 501–509 pp. doi:10.1016/j.asd.2014.05.002.

**Azeez, O.I., Meintjes, R. and Chamunorwa, J.P.**, 2014, Fat body, fat pad and adipose tissues in invertebrates and vertebrates: the nexus, *Lipids in Health and Disease*, 13(1):71 pp. doi:10.1186/1476-511x-13-71.

**Canavoso, L.E., Jouni, Z.E., Karnas, K.J., Pennington, J.E., and Wells M.A.**, 2001, Fat metabolism in insects, *Annual Review of Nutrition*, 21:23–46 pp.

**Capinera, J.L.**, 2008, Encyclopedia of Entomology, Second Edition, Springer, 4346 p.

**Carvalho, R.B.R., Andrade, F.G., Levy, S.M., Moscrdi, F., Falleiros, A.M.F.**, 2013, Histology and ultrastructure of the fat body of *Anticarsia gemmatalis* (HÜBNER, 1818) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE), *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56(2):303-310 pp.

**Chauhan, V.K., Dhanial, N.K., Ayinampudi, P., Chaitanya, R.K. and Dutta-Gupta, A.**, 2017, Fat body remodeling in *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera-Noctuidae) during postembryonic development, *Entomon*, 42(4):259-268 pp.

**Chapman, R.F.**, 2013, The Insects Structure and Function, Fifth Edition, Cambridge University Press, New York, 929p.

**Costa-Leonardo, A.M., Laranjo, L.T., Janei, V. And Haifig, I.**, 2013, The fat body of termites: functions and stored materials, *Journal of Insect Physiology*, 59(6):577–587 pp. doi:10.1016/j.jinsphys.2013.03.009.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

**Coupland, R.E.**, 1957, Observations on the normal histology and histochemistry of the locust (*Schistocerca gregaria*), *Journal of Experimental Biology*, 34:290-296 pp.

**Cruz-Landim, C., Roat, T.C. and Berger, B.**, 2013, Fat body, hemolymph and ovary routes for delivery of substances to ovary in *Melipona quadrifasciata* anthidioides: differences among castes through the use of electron-opaque tracers, *Microscopy*, 62(4):457–466 pp.

**Cunha, F.M., Wanderley-Teixeira, V., Teixeira, A.A.C. and Alves, L.C.**, 2016, Ultrastructure and histochemistry of the fat body of *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae), *Invertebrate Reproduction & Development*, 60:2,126-130 pp.

**Dean, R.L., Locke, M. and Collins, J.V.**, 1985, Structure of fat body, In: Kerkut G.A, Gilbert, L.A. (Eds), *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, vol.3, Pergamon Press, Oxford, 155-210 p.

**Footitt, R.G., and Adler, P.H.**, 2018, *Insect Biodiversity: Science and Society*, Volume 2, John Wiley & Sons Ltd., 987p.

**Furtado, W.C.A., Azevedo, D.O., Martins, G F., Zanuncio, J.C. and Serrão, J.E.**, 2013, Histochemistry and Ultrastructure of Urocytes in the Pupae of the Stingless Bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Meliponini), *Microscopy and Microanalysis*, 19:1502–1510 pp. doi:10.1017/S1431927613013445.

**Gillot, C.**, 2005, *Entomology*, Third Edition, Springer, 831p.

**Goldsmith, M.R. and Marec, F.**, 2010, *Biology and Genetics of the Lepidoptera*, CRC Press, 349 p.

**Gomori, M.**, 1952, *Microscopic Histochemistry*, University of Chicago Press, 273 p.



## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

**Gould A.P., Elstob P.R. and Brodu V.**, 2001, Insect oenocytes: a model system for studying cell-fate specification by Hox genes, *Journal of Anatomy*, 199:25–33 pp. doi:10.1017/s0021878201008317.

**Gullan, P.J and Cranston, P.S.**, 2014, The Insect: An Outline of Entomology, Fifth edition, John Wiley & Sons, Ltd, 987p.

**Hauerland, N.H., Nair, K.K. and Bowers, W.S.**, 1990, Fat body heterogeneity during development of *Heliothis zea*, *Insect Biochem*, 20(8): 829-837 pp.

**Hauerland, N.H., and Shirk, P.D.**, 1995, Regional and functional differentiation in the insect fat body, *Annual Review of Entomology*, 40:121-45 pp. doi:10.1146/annurev.en.40.010195.001005.

**Hepburn, H.R., Bernard, R.T.F., Davidson, B.C., Muller, W.J., Lloyd, P., Kurstjens, S.P. and Vincent, S.L.**, 1991, Synthesis and secretion of beeswax in honeybees, *Apidologie*, 22:21-36 pp.

**Hinton, H.E.**, 1958, On the nature and metamorphosis of the colour pattern of *thaumalea* (Diptera, Thaumaleidae), *J. Ins. Physiol.*, 2:249-260 pp.

**Hinton, H.E.**, 1959, The Function of Chromatocytes in the Simuliidae, with Notes on their Behaviour at the Pupal-adult Moult, *Quarterly Journal of Microscopical Science*, 100(1): 65-71 pp.

**Humason, G.L.**, 1962, Animal Tissue Techniques, United States of America, 458 p.

**Imms A. D.**, 1908, On the larval and pupal stages of *Anopheles maculipennis*, meigen, *Parasitology*, 1(2):103-133 pp. doi:10.107/S0031182000003322.

**Jensen, P.V. and Borgesen, L.W.**, 2000, Regional and functional differentiation in the fat body of pharaoh's ant queens, *Monomorium pharaonis* (L.), *Arthropod Structure & Development*, 29:171–184 pp. doi:10.1016/s1467-8039(00)00021-9.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

**Jia, Q., Chen, X., Wu, L., Ruan, Z., Li, K. and Li, S.,** 2018, Matrix metalloproteinases promote fat body cell dissociation and ovary development in *Bombyx mori*, *Journal of Insect Physiology*, 111:8-15 pp. doi:10.1016/j.jinsphys.2018.10.002.

**Kaneko, Y., Yasanga, T., Suzuki, M. and Sakurai, S.,** 2011, Larval fat body cells die during the early pupal stage in the frame of metamorphosis remodeling in *Bombyx mori*, *Journal of Insect Physiology*, 57:1715–1722 pp. doi:10.1016/j.jinsphys.2011.09.013.

**Keeley, L.L.,** 1985, Physiology and Biochemistry of the Fat Body, In: Kerkut G.A, Gilbert, L.A. (Eds), *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, vol.3 Pergamon Press, Oxford 211-247 p.

**Kozabirlik, 2016,** İpek böcekçiliği, S. S. Bursa Koza Tarım Satış Kooperatifleri Birliği, Bursa, 13 s.

**Lipovsek, S., Janzekovic, F. and Novak, T.,** 2017, Ultrastructure of fat body cells and Malpighian tubule cells in overwintering *Scoliopteryx libatrix* (Noctuoidea), *Protoplasma*, 254(6):2189–2199. doi:10.1007/s00709-017-1110-3.

**Li, S., Yu, X. And Feng, Q.,** 2019, Fat Body Biology in the Last Decade, *Annual Review of Entomology*, 64:315-33 pp.

**Liu, Y., Liu, H., Liu, S., Wang, S., Jiang, R.J. and Li, S.,** 2009, Hormonal and nutritional regulation of insect fat body development and function, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 71(1)16–30 pp. doi:10.1002/arch.20290.

**Locke, M.,** 1969, The ultrastructure of the oenocytes in the molt/intermolt cycle of an insect, *Tissue&Cell*, 1(1):103-154 pp.

**Locke, M. and Smith, D.S.,** 1980, *Insect Biology in the Future*, Academic Press New York, 977 p.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

**Loof, A., and Lagasse, A.,** 1970, Juvenile Hormone and the Ultrastructural Properties of the Fat Body of the Adult Colorado Beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say, *Z. Zellforsch.* 106, 439-450 pp.

**Lycett, G. J., McLaughlin, L.A., Ranson, H., Hemingway, J., Kafatos F.C., Loukeris, T.G. and Paine, M.J.I.,** 2006, *Anopheles gambiae* P450 reductase is highly expressed in oenocytes and in vivo knockdown increases permethrin susceptibility, *Insect Molecular Biology*, 15(3):321–327 pp. doi: 10.1111/j.1365-2586.2006.00647.x.

**Martins, G.F. and Pimenta, P.F.P.,** 2008, Structural Changes in Fat Body of *Aedes aegypti* Caused by Aging and Blood Feeding, *Journal of Medical Entomology*, 45(6):1102-1107 pp. doi:10.1603/0022-2585(2008)45[1102:scifbo]2.0.co;2.

**Martins, G.F. and Ramalho-Ortigão, J.M.,** 2012, Oenocytes in insects, *Invertebrate Survival Journal*, 9:139-152 pp.

**Öber, A.,** 2009, Zoolojide Laboratuvar Teknikleri, 3. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi Bornova İzmir, 209 s.

**Paes de Oliveira, V.T. and Cruz-Landim, C.,** 2015, Morphology and function of insect fat body cells: a review, *Biociencias*, 11(2)195-205 pp.

**Park, M.S., Park P. and Takeda M.,** 2013, Roles of fat body trophocytes, mycetocytes and urocytes in the American cockroach, *Periplaneta americana* under starvation conditions: An ultrastructural study, *Arthropod Structure & Development*, 42:287-295 pp.

**Parlak, O.,** 2001, İpekböceği Biyolojisi, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 127 s.

**Pascini, T.V., Albeny, D.S., Ramalho-Ortigao, M., Vilela, E.F., Serrao, J.E. and Martins, G.F.,** 2011, Changes in the Fat Body during the Post-Embryonic Development of the Predator *Toxorhynchites theobaldi* (Dyar & Knab) (Diptera: Culicidae), *Neotropical Entomology*, 40(4):456-461 pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

**Patkin, E. L. and Sorokin, A. V.**, 1983, Nucleolus-organizing regions of chromosomes in early embryogenesis of laboratory mice, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 96(2):1142–1144 pp.

**Poyraz, E., Göncü, E. And Parlak, O.**, 2013, Investigation of the Interaction between Fat body and Ovary Development during Pupal Transformation in Silkworm, *Bombyx mori*, *IUFS Journal of Biology*, 72(2):1-13 pp.

**Reddy, R.M.**, 2009, Innovative and multidirectional applications of natural fibre, silk- a review, *Academic Journal of Entomology*, 2(2):71-75 pp.

**Resh, V.H. and Carde, R.T.**, 2003, Encyclopedia of Insects, Academic Press California, 1266 p.

**Roma, G.C., Mathias, M.I.C., Bueno, O.C.**, 2006, Fat body in some genera of leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae). Proteins, lipids and polysaccharides detection, *Micron* 37(3):234–242 pp. doi:10.1016/j.micron.2005.10.012.

**Roma, G.C., Bueno, O.C. and Camargo-Mathias, M.I.**, 2010, Morpho-physiological analysis of the insect fat body: a review, *Micron*, 41:395–401 pp.

**Ryu, K.S.**, 1978, İpek Böceği Bakım, Beslenme ve Hastalıkları, İpek Böceği Araştırma Enstitüsü Yayınları, No: 70, Bursa, 59 s.

**Schin, K., Laufer, H., and Carr, E.**, 1977, Cytochemical and electrophoretic studies of haemoglobin synthesis in the fat body of a midge, *Chironomus thummi*, *Journal of Insect Physiology*, 23(10):1233–1242 pp.

**Singh, T.**, 2007, Sericulture, Applied Zoology, 18p.

**Souza, R.B., and Fontanetti C.S.**, 2012, Alterations in the fat body cells of *Rhinocricus padbergi* (Diplopoda) resulting from exposure to substrate containing sewage sludge. *Microscopy and Microanalysis*, 18:317–323 pp. doi:10.1017/S1431927611012645

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Soysüren, H.Ş.**, 2016 Farklı Denizkestanesi Türlerinde İmmün Sistem Hücre Tiplerinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 47s.

**Sumithra, P.H., Cathrin, P., Britto C.P. and Krishnan M.K.**, 2010, Modes of cell death in the pupal perivisceral fat body tissue of the silkworm *Bombyx mori*, *Cell and Tissue Reseach*, 339:349–358 pp. doi: 10.1007/s00441-009-0898-3

**Susithra, N.**, 2014, Studies on the impact of food supplementation of vegetable dyes on histological and ultrastructural changes of silkworm *Bombyx mori* (L.) (Lepidoptera: Bombycidae) in relation to synthesis and secretion of silk, Annamalai University, India, 276p.

**Tian, L., Ma, L., Guo, E., Deng, X., Ma, S., Xia, Q., Cao, Y., Li, S.**, 2013, 20-hydroxyecdysone upregulates *Atg* genes to induce autophagy in the *Bombyx* fat body, *Autophagy*, 9(8):1172–1187 pp.

**Tojo, S., Betchaku, T., Ziccardi, V.J. and Wyatt, G. R.**, 1978, Fat body protein granules and storage proteins in the silkmoth , *Hyalophora cecropia*, *J. Cell Biology*, 78:823-838 pp.

**Tsuchida, K. and Wells, M.A.**, 1988, Digestion, absorption, transport and storage of fat during the last larval stadium of *Manduca sexta*. Changes in the role of lipophorin in the delivery of dietary lipid to the fat body, *Insect Biochemistry*, 18(3):263-268 pp.

**Turgay-İzzetoğlu, G., and Gülmez, M.**, 2019, Characterization of fat body cells at different developmental stages of *Culex pipiens*, *Acta Histochemica*, 121:460–471 pp. doi:10.1016/j.acthis.2019.04.002.

**Turgay-İzzetoğlu, G., Engin, D. ve Öber, A.**, 2008, Zoolojide Laboratuvar Teknikleri Dersi Uygulamaları, 3. baskı, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Teksirler Serisi No: 130, 61 s.



**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Wicker-Thomas, C., Guenachi, I. And Keita, Y.F.,** 2009, Contribution of oenocytes and pheromones to courtship behavior in *Drosophila*, *BMC Biochemistry*, 10(1):21 pp.

**Wigglesworth, V.B.,** 1942, The storage of protein, fat, glycogen and uric acid in the fat body and other tissues of mosquito larvae, *Journal of Experimental Biology*, 19:56-77 pp.

**Wigglesworth, V.B.,** 1987, Histochemical Studies of Uric Acid In Some Insects. I. Storage In the Fat Body of *Periplaneta americana* and the Action of the Symbiotic Bacteria, *TISSUE & CELL*, 19(1):83-91 pp.

**Willott, E, Bew, L.K., Nagle, R.B. and Wells M.A.,** 1988, Sequential structural changes in the fat body of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*, during the fifth larval stadium, *TISSUE & CELL*, 20(4):635-643 pp. doi:10.1016/0040-8166(88)90065-1.

**Wüest, J.,** 1978, Histological and cytological studies on the fat body of the cockroach *Nauphoeta cinerea* during the first reproductive cycle, *Cell and Tissue Research*, 188:481-490 pp.

**Yelkovan, S.,** 2017, İpek Böceği *Bombyx mori*'de, Pupal Dönemde, Yağ Doku Metabolizması Üzerine İnsülin Ve Glukagon Hormonlarının Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 162s.

**Zara, F.J. and Caetano, F.H.,** 2004, Ultramorphology and histochemistry of fat body cells from last instar larval of the *Pachycondyla (=Neoponera) villosa* (Fabricius) (Formicidae: Ponerinae), *Brazilian Journal of Biology*, 64(3B):725-735 pp.

## TEŞEKKÜR

Tez konumu seçme sürecinden başlayarak tezimin yazım aşaması sonlanana kadar karşıma çıkan her türlü soruna benimle birlikte çözüm arayan ve beni motive eden, laboratuvar çalışmalarım sırasında meydana gelen olumsuzluklarda yeni yollar üretmeme olanak tanıyan, lisans eğitimimden beri tüm bilimsel birikimini bana aktaran, sadece akademik yaşamda değil özel yaşamımda da her zaman çok sevdiğim ve saydığım sayın Dr. Öğr. Üyesi Gamze TURGAY İZZETOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımını hiçbir zaman esirgemeyen, özellikle elektron mikroskobu yöntemi için diseksiyon aşamasından itibaren tüm inceleme ve fotoğraflama aşamalarını gerçekleştiren, elde ettiğimiz verileri yorumlama aşamasında farklı açılardan bakmamı sağlayan, her konuda elimden gelenin en iyisini yapabilmem için bilimsel donanımı, yaratıcı ve pratik fikirleriyle çalışmalarına ışık tutan kıymetli hocam, sayın Dr. M. Salih YIKILMAZ'a çok teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimi boyunca güler yüzü, yüksek enerjisi ve yardımseverliği ile her zaman maddi ve manevi destek olan, ayrıca zengin bilimsel birikimiyle laboratuvar çalışmalarına yol gösteren, elektron mikroskobu yöntemi görüntüleme ve yorumlama aşamalarında büyük emeği olan sayın Doç. Dr. Savaş İZZETOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Bölümümüzün tüm olanaklarından faydalanmamı sağlayan Bölüm Başkanı sayın Prof. Dr. Ferah SAYIM'a ve Zooloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Dinçer AYZAZ'a ve FYL-2018-20219 nolu projeye maddi desteği için EÜ. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Böcek Fizyolojisi Araştırma Laboratuvarındaki cihazları kullanmama izin veren Doç. Dr. Nesrin Ebru GÖNCÜ'ye ve Genetik ve Seroloji Laboratuvar cihazlarına erişimime izin veren sayın Prof. Dr. Nurşen ALPAGUT KESKİN ile bu laboratuvardaki çalışmalarına yardımcı olan doktora öğrencisi Dirim ŞENDOĞAN'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışma materyalim olan ipek böceklerinin bölümümüzün İpek Böceği Kültür Laboratuvarında yetiştirilmesi sırasında birlikte çalışmaktan zevk aldığım ve fikirlerine çok önem verdiğim bölümümüz doktora öğrencisi Büşra ÖZER GÜNAY'a istatistiksel analizleri yapmamda da yardımcı olduğu için çok teşekkür ederim. Yine ipek böceği yetiştirme döneminde bir araya geldiğim Celal Bayar Üniversitesi Araş Gör. Esen POYRAZ TINARTAŞ'a, bölümümüz lisansüstü öğrencileri Nurcan GÜLER ve Tuğçe ERGİN'e, Kimya Mühendisliği lisansüstü öğrencileri Büşra AK ve Eylem ATAK' a bu yorucu dönemi eğlenceli hale getirdikleri için, ayrıca Ceren ERSOY'a hem böcek yetiştirme dönemindeki hem de laboratuvar çalışmalarım sırasındaki yardımları için çok teşekkür ederim.

Ayrıca lisans eğitimimden beri pozitif düşünceleriyle her zaman moral veren, hayatıma renk katan canım arkadaşlarım Çisem DENİZLİ FOÇALI, Esra BALTACI KARYELİ, Gözde NİŞANCI ve Selin KÜÇÜK,'e, ayrıca lisansüstü dönemimde tanıştığım ve çok değer verdiğim Leyla ACAR ve İnci TURAN ÖZGAN'a manevi olarak her zaman yanımda oldukları için çok teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimi boyunca en büyük destekçilerimden biri olan, hem ipek böceği yetiştirilmesi sırasında hem de laboratuvar çalışmalarımda yardım eden, kendi çalışması gibi yaklaşım çalışsan, hem iyi hem kötü günlerimde güzel düşüncelerine ve adaletli kişiliğine sonsuz güvendiğim, benim için bir kız kardeş gibi olan en yakın dostum Tuğba ZÜLFİKAROĞLU'na çok teşekkür ederim.

Ve hayatım boyunca verdiğim kararlara saygı duyan, her zaman yanımda olan, karşılıksız sevgi ve güvenleriyle güç bulduğum, benim için kendilerinden fedakârlık yapan, en zor anlarımda sadece onların desteği ile devam edebildiğim canım aileme yaptıkları her şey için minnettarım.

10 / 02 / 2020

Asiye PAK

## ÖZGEÇMİŞ

KİMLİK BİLGİLERİ	
Adı Soyadı	Asiye PAK
TC. Kimlik No	45604002326
Doğum Tarihi	27.12.1994
Doğum Yeri	Konak
Medeni Hali	Bekar

ÖĞRENİM GÖRDÜĞÜ OKULLAR		BÖLÜM	MEZUNİYET YILI
İlkokul ve Ortaokul	Ahmet Ragıp Üzümcü İlköğretim Okulu		2008
Lise	Vali Nevzat Ayaz Lisesi		2012
Lisans	Ege Üniversitesi	Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2017
Yüksek Lisans	Ege Üniversitesi	Fen Bilimleri Enstitüsü	

BİLİMSEL AKTİVİTELER
Pak A., Eklem Bacaklılarda Üretilen İpeğin Kullanım Alanları, Yüksek Lisans Seminer Sunumu, 3 Mayıs 2019, Ege Üniversitesi, İzmir.
Özgan-Turan İ, Turgay İzzetoğlu G., Pak A., Zülfikaroğlu T. ve Yalçın S., Tavuk Embriyosunda Kalp Ventriküllerinin ve Purkinje Hücrelerinin Histokimyasal Olarak Gösterilmesi, Poster Sunum, 24. Ulusal Biyoloji Kongresi, 10-14 Eylül 2018, Celal Bayar Üniversitesi, Manisa, Sf:123.
Turgay İzzetoğlu G., Pak A., Zülfikaroğlu T., Öztürk TK., 2018, The Effects of Juvenile Hormone Analogue, Fenoxycarb on the Last Instar Testes of <i>Bombyx mori</i> , Hacettepe J. Biol. & Chem., 2018, 46 (2), 297–305.
Turgay İzzetoğlu G., Pak A., Zülfikaroğlu T., Öztürk TK., Son İstar <i>Bombyx mori</i> Testislerine Juvenil Hormon Analogu Fenoxycarb'ın Etkileri, Sözlü Sunum, 3.Ulusal Uygulamalı Biyolojik Bilimler Kongresi, 3-5 Mayıs 2018, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, Sf:27.

2. Deneysel Çalışmalarda Görüntüleme Yöntemleri Çalıştayı, 16 Aralık 2016, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Ege Üniversitesi, İzmir.

Ege Üniversitesi 1. Bilim Okulu Günleri, 20-21 Nisan 2016, Prof. Dr. Yusuf Vardar -MÖTBE- Kültür Merkezi, Ege Üniversitesi, İzmir (Düzenleme Komitesi Üyesi olarak).

3. Temel Kök Hücre Eğitim Semineri, 20 Aralık 2015, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi - 20 Mayıs Amfisi, Ege Üniversitesi, İzmir

6. Geleneksel Bilim ve Teknoloji Sempozyumu: Nörodejeneratif Hastalıklar ve Moleküler Mekanizması, 29 Mart 2014, Prof. Dr. Yusuf Vardar -MÖTBE- Kültür Merkezi, İzmir.

