

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

***MELANOGRYLLUS DESERTUS* (PALLAS, 1771)
(ORTHOPTERA: GRYLLIDAE)'TA HEMOSİT
TİPLERİNİN BELİRLENMESİ**

Beklan Eren ÖZKAN

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Gürsel ERGEN

Biyoloji Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 401.04.00

Sunuş Tarihi : 13.09.2011

Bornova-İZMİR

2011

Beklan Eren ÖZKAN tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak sunulan “*Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771) (Orthoptera: Gryllidae)’ta Hemosit Tiplerinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 13/09/2011 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği / oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri

İmza

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Gürsel ERGEN

.....


Raportör Üye: Yrd. Doç. Dr. Hatice KARAKİŞİ

.....


Üye: Yrd. Doç. Dr. Fevzi KIRKIM

.....


ÖZET***MELANOGRYLLUS DESERTUS* (PALLAS, 1771)
(ORTHOPTERA: GRYLLIDAE)'TA HEMOSİT TİPLERİNİN
BELİRLENMESİ**

ÖZKAN, Beklan Eren

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Gürsel ERGEN
Eylül 2011, 23 sayfa

Bu çalışmada, Orthoptera takımına ait Gryllidae familyasından bir tür olan *Melanogryllus desertus*'un ergin dişi ve erkek bireylerin hemolenfindeki hemositlerin morfolojik yapıları ışık mikroskobu aracılığıyla incelenerek, bu hücrelerin tanımları yapıldı. Ergin *M. desertus* bireylerinin hemolenfinde ışık mikroskobu yardımıyla morfolojik olarak beş farklı tip hemosit tespit edildi. Bu hücreler prohemositler, plazmatositler, granülositler, önositler ve sferül hücreler olarak belirlendi. Elde edilen sonuçlar dahilinde ergin *M. desertus* bireylerinde bulunan hemositler, diğer türlerde bulunan hemositlerle karşılaştırıldı. Yapılardaki farklılıklar ve benzerlikler göz önüne alınarak hemositlerin yapısal ve fonksiyonel önemleri değerlendirildi.

Anahtar Sözcükler: Orthoptera, Hemosit, Hemolenf, *Melanogryllus desertus*.

ABSTRACT**DETERMINING THE HEMOCYTE TYPES OF
MELANOGRYLLUS DESERTUS (PALLAS, 1771) (ORTHOPTERA:
GRYLLIDAE)**

ÖZKAN, Beklan Eren

M.Sc. in Biology
Supervisor: Prof. Dr. Gürsel ERGEN
September 2011, 23 pages

In this study, adult male and female *Melanogryllus desertus* (Orthoptera: Gryllidae) hemocytes were studied. *M. desertus*' adult male and female hemocytes morphology were studied under the light microscope and their definitions were examined. In this investigation period, five types of hemocytes determined in the *M. desertus*' hemolymph. These hemocytes are; prohemocytes, plasmatocytes, granulocytes, oenocytoids and spherulocytes. According to our study results adult *M. desertus*' hemocytes were compared with other species hemocytes. Their structure and functional importance were evaluated by using similarity and difference.

Keywords: Orthoptera, Hemocytes, Hemolymph, *Melanogryllus desertus*.

TEŞEKKÜR

Çalışma konumun belirlenmesinden baőlayarak tezimin tüm aőamaları boyunca değerli bilgilerini, sonsuz desteğini ve sabrını benden hiçbir zaman esirgemeyen ve her zaman yanımda olan danıőman hocam, Zooloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gürsel ERGEN'e en içten teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalıőmamı destekleyen Ege Üniversitesi Araőtırma Fon Saymanlığına, çalıőmalarım sırasında bana her zaman yardımcı olan tüm arkadaőlarıma ve bugünlere kadar gelmemi sağlayan kıymetli aileme teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
ABSTRACTvii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1 Böcek Kan Hücreleri (Hemositler)	3
2. MATERYAL VE METOT	7
2.1 Böceklerin Yetiştirilmesi	7
2.2 Deneysel Prosedür	7
2.3 Hemositlerin Boyanması	8
2.4 Mikroskopik İnceleme	8
3. BULGULAR	9
3.1 Hemosit Hücreleri	9
3.1.1 Prohemositler	9
3.1.2 Plazmatositler	10
3.1.3 Granülositler	10

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.1.4 Sferül Hücreler (Sferüositler)	11
3.1.5 Önositoitler	11
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	13
KAYNAKLAR DİZİNİ	20
ÖZGEÇMİŞ	23

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Hemosit Tiplerinin Morfolojisi.....	5
1.2 Hemosit farklılaşmasının olası şekli.....	6
3. Hemosit tiplerinin genel görüntüsü.....	9
3.1.1 Prohemositler.....	10
3.1.2 Plazmatositler.....	10
3.1.3 Granülositler.....	11
3.1.4 Sferül Hücreler.....	11
3.1.5 Önositoitler.....	12

1. GİRİŞ

Böcek hemolenfi hemosöl ya da vücut boşluğunu dolduran ekstrasellüler vücut sıvısı olarak tanımlanmaktadır. Hemolenf toplam vücut hacminin %15-75'ini, toplam vücut ağırlığının ise %5-40'ını oluşturmakla beraber bu miktar larvalarda her zaman erginlerden daha fazladır. Hemolenf, sıvı (plazma) ve hemositlerden meydana gelmektedir. Vücutta hemolenf içerisinde bulunan ve serbest şekilde hareket edebilen veya hemolenfi çeviren dokulara yapışan ve böcek kan hücreleri olarak tanımlanan hemositlerin sayısı değişkendir ve hemositler renksiz hücrelerdir (Gupta, 1985).

Hemolenf genellikle renksiz olup, pigmentler nedeniyle hafif yeşilimsi veya sarı renkli bir sıvıdır. Besin maddelerinin bağırsaktan organlara, artık maddelerin dokulardan boşaltım organına ve hormonların gerekli yerlere iletilmesini sağlamaktadır. Ayrıca organlar arasında madde değişiminin meydana geldiği bir ortamdır. Solunumdaki çok ufak bir rolü olmakla birlikte bazı böcek türlerinde trake ile donatılmış organlara oksijenin iletimi hemolenf aracılığıyla olmaktadır (Gupta, 1985). Omurgalı hayvanların solunumunda önemli bir role sahip olan hemoglobinin, bazı böceklerde hemolenf içerisinde çözülmüş olarak bulunabilir. Bunlardaki hemoglobinin molekülü iki adet hem grubu içerdiğinden büyüklük bakımından, omurgalıdakinin aşağı yukarı yarısı kadardır. Buna karşın hemolenfin karbondioksit taşınımında oldukça büyük önemi vardır. Karbondioksitin büyük bir kısmı deriden dışarıya difüzyon ile çıkarken, bir kısmı da hemosöle geçerek hemolenfe katılmaktadır. Hemolenf aracılığıyla da vücut yüzeyine ve buna bağlı olarak trakenin bazı bölgelerine ulaşarak dışarıya atılımı sağlanmış olur (Demirsoy, 2003).

Hemolenfin bir diğer görevi yaraları kapamaktır. Bazı kınkanatlı türlerinde fibril oluşumu ile gerçek anlamda bir koagülasyon görülmekteyken diğer böceklerin çoğunda, bal arısı larvalarında ve hamamböceklerinde, yaranın kapanması bir plazma koagülasyonuna dayanmaz. Bu böceklerde yaranın kapanması, hemositlerin yalancı ayaklarının yardımıyla bir aglütinasyonun (yığılımın) meydana gelmesine ve oluşan tıkaçın yarayı kapatmasına dayanır.

Larvalarda yaranın tamamen kapatılmasından sonra yeni deri değişimi yapılabilir ancak erginlerde sadece yara kapatılabilmektedir (Demirsoy, 2003).

Hemolenf, omurgalılarıdaki kan plazmasından çok daha fazla ozmotik basınca sahiptir. pH çoğunlukla hafif asidik değerlerdedir. Ancak bazı sinek larvalarında ve bazı kelebeklerin son larval evrelerinde bazik tepkime göstermektedir (pH 7,1-7,5). Katabolik reaksiyonlar sonucu açığa çıkan maddeler genel olarak asidik olduğu için hemolenfteki tamponlama kapasitesi oldukça büyüktür. Tamponlayıcı maddeler olarak bikarbonatlar, fosfatlar, proteinler ve amino asitler görev yaparlar. Bal arısı larvalarında hemolenfin toplam protein miktarı %6.6 civarında olmasına rağmen, diğer böceklerde bu miktar daha düşüktür. Protein miktarı, gelişme döneminde özellikle başkalaşımdan önce ya da başkalaşım sırasında büyük değişimler gösterir. Böcek gelişiminde proteine olan gereksinim arttığı için hemolenf içerisindeki protein miktarı azalmaktadır. Hemolenf proteini sadece albumin ve globulinden oluşmuştur (Demirsoy, 2003).

Böcek hemolenfinin diğer bir özelliği proteine bağlı olmayan azotlu bileşiklerin, serbest amino asitler halinde bulunmasıdır. Serbest azot bileşiklerinin miktarı memeli hayvanların kanları ile kıyaslandığında 50-100 misli daha fazladır. Örneğin, hemolenfteki toplam aminoasit miktarı çeçe sineğinde 150mmol/L iken insanlarda 2mmol/L'dir. Bundan başka hemolenf çok defa trehaloz, maltoz, sellobiyoz az miktarda fruktoz ve glikoz halinde şeker de içerir. Trehaloz ($C_{12}H_{22}O_{11}$) birçok böcekte temel enerji kaynağı olarak görev alır, aynı zamanda hücre zarını donmaya karşı koruduğundan (cryoprotectant) beslenmenin düzenlenmesinde görev alır. Vertebratlardaki enerji kaynağı olan glukozdan konsantrasyonu 5 ile 50 kat daha fazla olarak bulunur. Hemolenf içerisinde yağ da bulunmaktadır. Bunun miktarı alınan besinlerin yağ miktarına göre değişkenlik gösterir. Metamorfoz sırasında büyük miktarda yağ hücrelerinden hemolenfe verildiğinden hemolenfin yağ düzeyi yükselmektedir (Demirsoy, 2003).

(Gupta, 1985), hemositlerle ilgili araştırmaların 150 yıllık bir dönemden beri yapıldığını, eklembacaklılar arasında da en çok böcek hemositleri ile

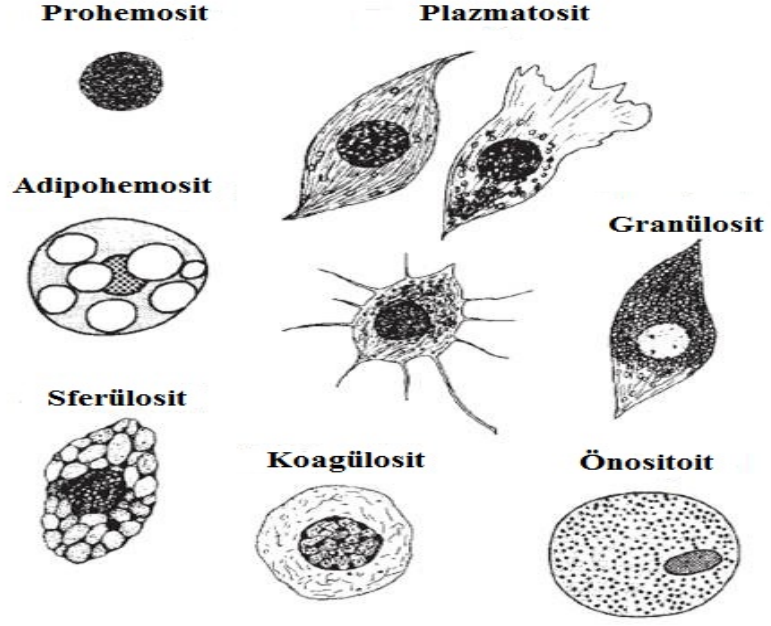
çalışıldığını bunu takiben, Crustacea, Arachnida ve Myriapoda gruplarına ait türlerin yer aldığını belirtmiştir. Böceklerde ve diğer eklembacaklılarda hemositlerin gruplandırılması morfolojik yapılarına, fonksiyonlarına, boyanma özelliklerine veya histokimyasal reaksiyonlarına göre yapılmış olduğundan ve aynı hemosit tipi veya aynı hemositin farklı formları için araştırmacılar farklı isimlendirmeler kullandıklarından, bu durum hücrelerin tanımlamalarında bazı karışıklıklara yol açmıştır (Gupta, 1985).

1.1. Böcek Kan Hücreleri (Hemositler)

Böceklerde hastalık oluşturan mikroorganizmalara karşı genellikle kan hücrelerinin oluşturduğu hücrel ve hücrel olmayan iki temel aktif bağışıklık sistemi vardır. Bunlar bazen hücrel ve hümoral (antibakteriyel protein) bağışıklık olarak da adlandırılmaktadır. Hümoral bağışıklık; hemolenfin pıhtılaşması veya melanizasyonunu düzenleyen kompleks enzimatik olayları ve antimikrobiyal peptidlerin sentezini içermektedir. Hemositler tarafından gerçekleştirilen hücrel bağışıklık tepkileri ise fagositoz, enkapsülasyon ve nodül oluşumu gibi savunma mekanizmalarını içermektedir. Ayrıca koagülasyon, yaraları iyileştirme gibi önemli görevlere sahiptirler ve bunun yanında metabolizmanın düzenlenmesinde de görev alırlar. Hemositler plazmada bulunurlar fakat çoğunlukla kan dolaşımında yer almak yerine diğer vücut dokularına bağlı olarak kalırlar. Embriyogenez sırasında belli bazı tiplere farklılaşırlar. Böcek hemositleri tip, morfoloji ve sayı olarak türden türe değişiklik gösterir (Gupta, 1985). Böceklerde çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda 55 farklı hemosit tipi tanımlanmış, bunun sonucunda aynı hemosit tipi veya aynı hemositin farklı formları için çeşitli isimlendirmeler yapılmış bu durum karışıklıklara yol açmıştır. Gupta (1985), bu hücrelerin ultrastrüktürel yapılarını dikkate alarak 7 ana tip hücrenin varlığından söz etmiştir. Bunlar, Prohemosit, Plazmatosit, Granülosit, Sferül hücreler (sferülositler), Adipohemosit, Önositoit ve Koagülositlerdir (sitositler) (Gupta, 1985).

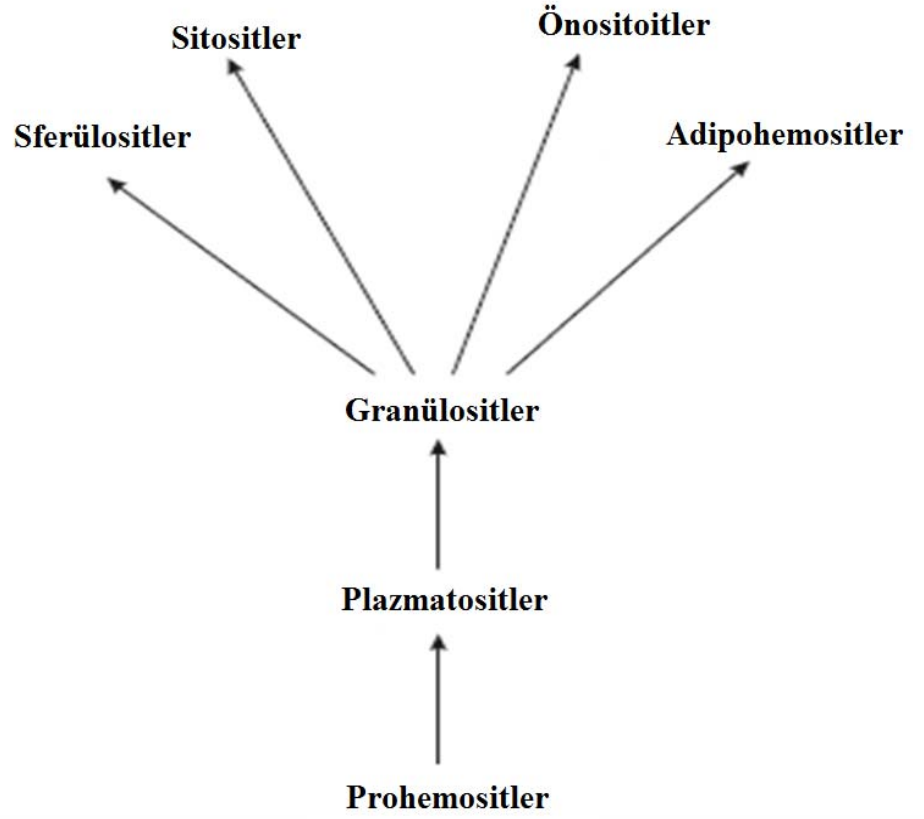
Gupta (1985), böceklerde hemositlerin tamamının ilk olarak küçük ve bölünme yeteneğine sahip prohemositler (ya da prolökositler) olarak ortaya çıktıklarını belirtir. Prohemositler küçük, yuvarlak, oval veya eliptik şekilli

hücrelerdir. Çekirdek hücrenin merkezinde ve oransal olarak oldukça büyük olup, hemen hemen tüm hücreyi doldurmaktadır. Gupta'ya (1985) göre hemositler önce plazmatositleri meydana getirmekte olup bunlar yuvarlak, oval, yıldız ve mekik gibi değişik şekillerde olabilen yalancı ayaklı, amipsi ya da plazma kıvrımlı hücrelerdir. Plazmatositler hemositler arasında en bol bulunanlarıdır ve sıklıkla fagositoya katılırlar. Plazmatositler granüositlere dönüşebilmektedirler. Granüositler, sitoplazmalarında bulunan çok sayıdaki granül nedeniyle çok kolay tanınabilmektedirler. Genellikle yuvarlak ve oval şekilli, sitoplazmaları yoğun hücrelerdir ve bu hücreler geri kalan hemosit tiplerine farklılaşırlar. Bunlar ışığı kuvvetli kıran bir zarla çevrilidirler. Granüositler yalancı ayak oluşturabilirler fakat fagositoz yapamamaktadırlar. Adipohemositler küresel ve eliptik şekilli olmakla birlikte sitoplazmaları granüler olup, boyutları değişen yağ damlacıkları içermektedirler. Küçük bir çekirdekleri bulunmaktadır. Pupaşma sırasında adipohemositlerin sayıları artarken, plazmatositlerin sayısı ise azalmaktadır. Sferül hücreler yuvarlak veya oval şekilli olup bu hücrelerin sayıları diğer hücrelere göre azdır. Sferül hücreler, içlerindeki küresel yapıları ile karakterize olmaktadır. Koagülositler (sitositler) genel olarak, küresel, kırılğan, şeffaf hücrelerdir. Dışarı alındıklarında hızlı bir şekilde parçalanırlar; sitoplazmaları ribozomca zengindir. Önositoidler, hemositler içinde en büyük hücrelerdir ve genellikle yuvarlak, oval, armut şekilli olabilirler. Çekirdekleri kuvvetlice boyanabilir, sitoplazmaları az yağ granülü içerir. Kenarları düzgün olup, tanınmaları da oldukça kolaydır (Gupta, 1985).



Şekil 1.1. Hemosit tiplerinin morfolojisi (Woodring, 1985)

Hemositler ilk olarak embriyogenez sırasında baş ve dorsal mezodermden gelişmektedirler. Böceklerde hemositlerin üretimi mezodermden türevlenen hematopoetik organlardaki kök hücrelerin bölünmesiyle veya dolaşımdaki hemositlerin bölünmeye devam etmesiyle sağlanmaktadır. Günümüzde hemositlerin oluşumu ve farklılaşması hakkında farklı teoriler bulunmasına rağmen genel düşünce, prohemositlerin hematopoetik organlarda ilk olarak plazmatositlere farklılaştığı, diğer hemosit tiplerinin ise dolaşıma katıldıktan sonra farklılaştığı ve dolaşımdaki hemosit populasyonlarının hücre farklılaşmalarından sonra devam eden hücre bölünmeleri ile sağlandığı şeklindedir (Strand, 2008).



Şekil 1.2. Hemosit farklılaşmasının olası farklılaşma şekli

Ülkemizde önemli bir tarım zararlısı olarak tanınan *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771)' un hemositleri üzerine 2,4-D'nin etkileri daha önce araştırılmış (Öner, 2010), ancak sunulan bu tez projesinde hemolenf hücrelerinin ışık mikroskobu düzeyinde incelenmesi ve hücre tiplerinin tanımlanması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Böceklerin Yetiştirilmesi

Çalışmada kullanılan *Melanogryllus desertus* PALL. (Orthoptera, Gryllidae), ergin erkek ve dişi bireyleri ilkbaharda doğadan (Tekirdağ /Çorlu) toplanarak $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, %45-50 bağıl nem ve uzun gün (16 saat ışık, 8 saat karanlık) fotoperiyodundaki laboratuvarında, $39\times 28\times 28$ boyutlarındaki plastik kaplarda kültüre alınmıştır. Çekirgeler kanatlı yemi (Yemta) ile beslenmiş olup, su gereksinimleri ise ağzı pamukla tamponlanmış su dolu ile cam tüplerin, yumurtlama kabı olarak kullanılan ve dibinde ıslak pamuk bulunan küçük kapakların üzerine nemli pamuklar alınarak, yumurtaların gelişmesi takip edilmiştir. İlk nimflerin 10-12 gün içerisinde ortaya çıktığı, deri değişimleri ile ayırt edilen dokuz nimfal evre sonrasında çekirgelerin ergin hale geldiği gözlenmiştir (Gümüşsuyu, 1973).

2.2. Deneysel Prosedür

Örnek alınması için laboratuvar şartlarında beslenen ve evrelerine göre ayrılan çekirgelerden ergin olanları (5 dişi, 5 erkek birey) (4 günlük) seçilmiştir. Işık mikroskopisi için ergin bireyler ilk olarak Woodring dengeli tuz solüsyonunda (9.1 gr NaCl, 0.52 gr KCl, 1.2 gr $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.82 gr $\text{MgCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$) yıkanmış, oldukça hareketli olan bu erginleri hareketsizleştirmek amacıyla, çekirgeler buz üzerinde 3-4 dakika bekletilmiştir. Hemolenfin alınması için, toraks ile abdomen birleşim kısmından ince uçlu iğne ile delinmiştir ve 5 μl hemolenf, pıhtılaşmanın engellenmesi amacıyla daha önceden Sitrik asit tamponu (0,0004 gr NaOH, 0,01 gr NaCl, 0,0006 gr EDTA, 0,0007 gr Sitrik Asit) ile yıkanmış olan mikropiller tüp yardımıyla alınmış, lam üzerine yayılarak 20-30 dakika ortam koşullarında kurumaya bırakılmıştır. Temiz lam üzerine yayılan kan örnekleri kurutulduktan sonra metanolde 5 dakika tespit edilerek boyama aşaması için hazırlanmıştır.

2.3. Hemositlerin Boyanması

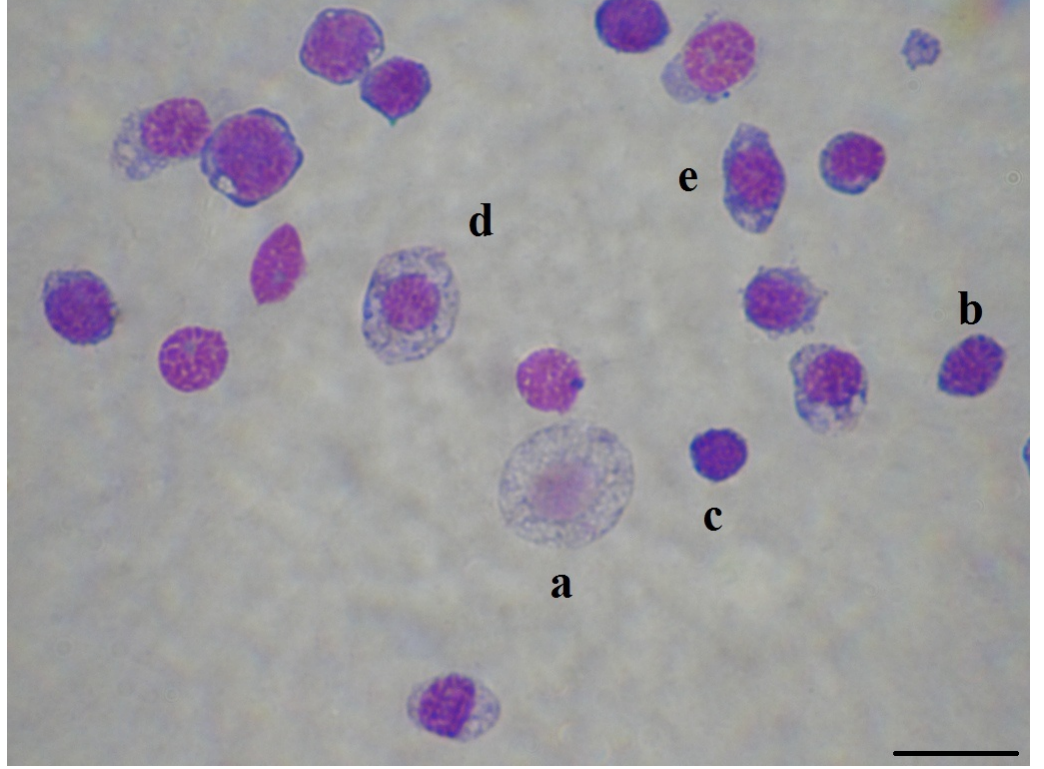
Alınan hemolenf örnekleri yayma preparat yöntemi ile hazırlanmış, Giemsa boyama tekniği ile boyanmıştır. Tespitten sonra kurutulan lamalar hazırlanan %10'luk Giemsa çözeltisi [6 ml Giemsa (Merck) + 54 ml tampon çözelti (2.44 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2.77 gr KH_2PO_4), pH: 6.8] içinde 12 dakika süre ile boyanmıştır. Boyama işlemi sonunda preparatlar hızlı bir şekilde saf su ile yıkanmış, kuruduktan sonra entallen (Merck) ile kapatılmıştır.

2.4. Mikroskopik İnceleme

Ergin bireylere ait olan kan hücreleri ışık mikroskopunda belirlenerek hem erkek hem dişi bireylerin preparatları ayrı ayrı incelenmiş, tüm preparatlarda bulunan hemosit tipleri tespit edilerek dijital ortamda kan hücrelerinin fotoğrafları alınmıştır.

3. BULGULAR

Bu çalışmada *M. Desertus* erginlerinden alınan hemolenfteki kan hücreleri incelenmiştir. Denemelerde kullanılan tüm ergin bireylerde (dişi-erkek) prohemosit, plazmatosit, granülosit, sferül hücre, önositoit olmak üzere beş farklı hemosit tipi tespit edilmiştir (Şekil 3).

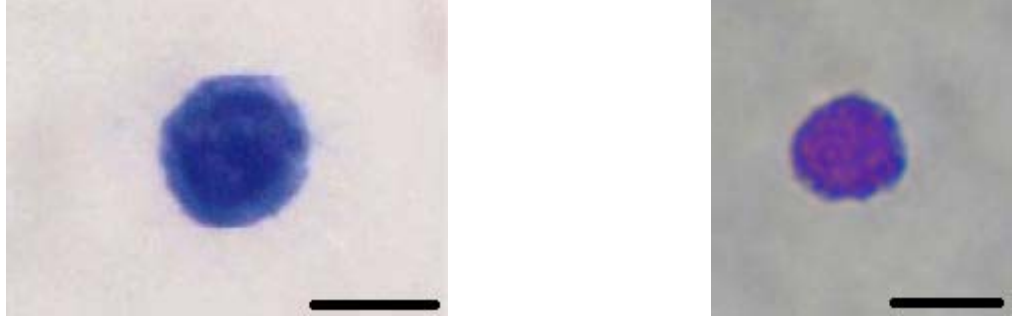


Şekil 3. Hemositlerin tiplerinin genel görüntüsü. (a) Önositoit (b) Sferülosit (c) Prohemosit (d) Granülosit (e) Plazmatosit. Ölçek 20µm.

3.1. Hemosit hücreleri

3.1.1. Prohemositler

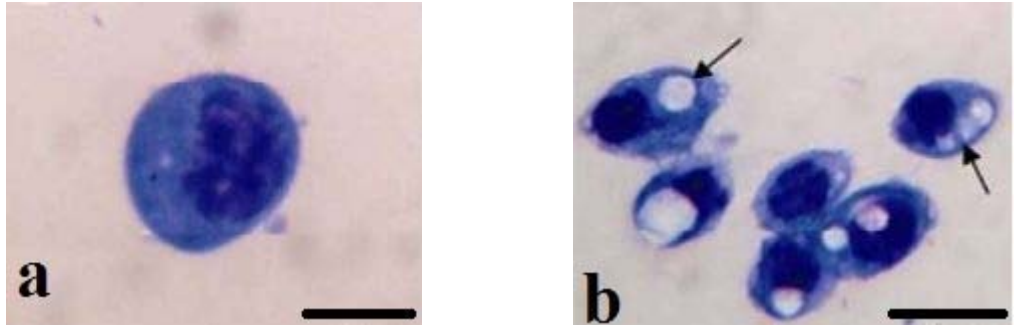
Prohemositler hemolenfte bulunan en küçük hücrelerdir (Şekil 3.1.1.). Yuvarlak, oval şeklinde hücreler olup büyüklükleri 4-12 µm kadardır. Merkezde bulunan büyük çekirdek hücrenin hemen hemen tamamını doldurmaktadır. Sitoplazma, çekirdeğin etrafında ince bir tabaka oluşturmaktadır.



Şekil 3.1.1. Prohemositlerin genel görüntüsü. Ölçek 5 μm .

3.1.2. Plazmatositler

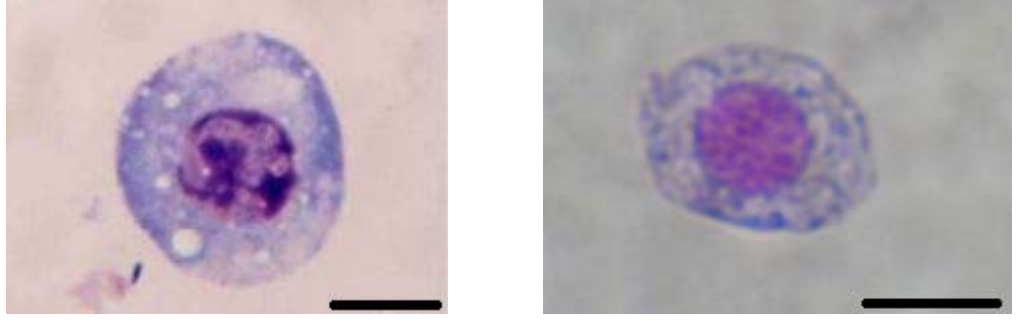
Plazmatositler, hemositler içerisinde şekilleri en çok değişiklik gösteren polimorf hücrelerdir. Yuvarlak, oval, yıldız ve mekik gibi değişik şekillerde olabilen bu hücrelerin büyüklükleri genellikle 10-20 μm kadardır. Plazmatositlerin kenarları düz veya dalgalı olup ince uzun sitoplazmik uzantıları bulunmaktadır. Çekirdekleri merkezde bulunmaktadır ve plazmatositin şekline göre yuvarlak, oval, uzun olabilmektedir. Preparatlarda tek tek bulunabildikleri gibi bazen ikili, üçlü gruplar halinde de görülebilmektedirler (Şekil 3.1.2.).



Şekil 3.1.2. Plazmatositin genel görüntüsü (a) ve grup halinde plazmatositler (b) Ölçek 10 μm .

3.1.3. Granülositler

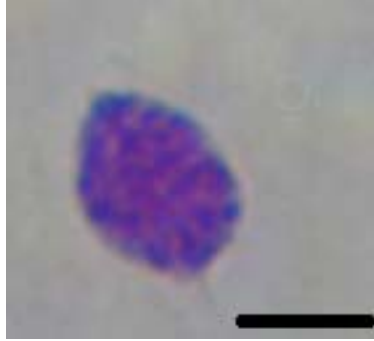
Granülositler genel olarak yuvarlak ve oval şekilli hücrelerdir. Büyüklükleri 8-18 μm arası değişmektedir. Granülositlerin çekirdekleri genellikle küçüktür ve çekirdekleri çok sayıda granül içeren sitoplazma ile çevrilmiştir. Sitoplazmalarında bulunan çok sayıda granül nedeniyle oldukça kolay bir şekilde tanınmaktadırlar. (Şekil 3.1.3)



Şekil 3.1.3. Genel yapı olarak granülositler. Ölçek 10 μm .

3.1.4. Sferül Hücreler

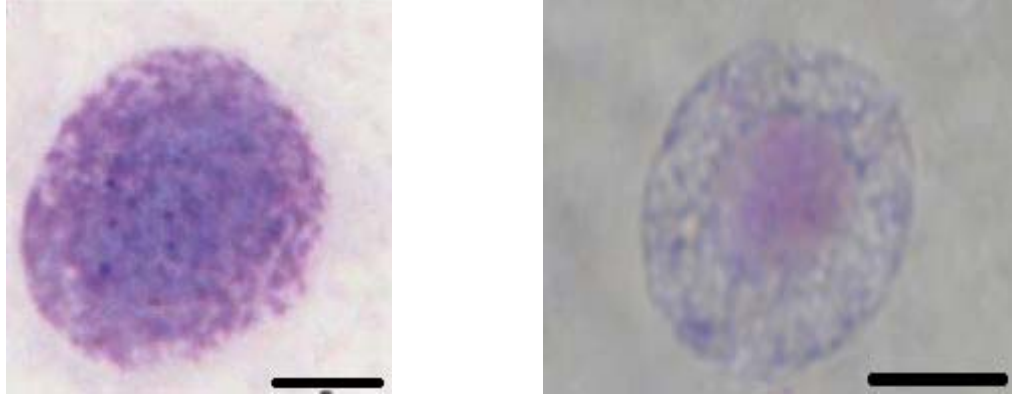
Sferül hücreler (sferülositler) genellikle yuvarlak veya oval şekilli hücreler olup büyüklükleri 12-18 μm kadardır. Hareketsiz hücrelerdir ve çekirdekleri genellikle hücrenin merkezinde bulunmaktadır. Bu hücreler, içlerindeki küresel yapıları (sferüller) ile kolayca tanınmaktadırlar. Sitoplazmasında çok sayıda tanecik bulunması nedeniyle çekirdeğin ışık mikroskopunda ayırt edilmesi zordur (Şekil 3.1.4.).



Şekil 3.1.4. Genel hücre hatları ile bir sferülosit. Ölçek 10 μm .

3.1.5. Önositoitler

Önositoitler, genel olarak oval veya yuvarlak şekilli, küçük bir çekirdeğe ve oldukça kompleks bir sitoplazmaya sahip hücrelerdir. Hemositler içindeki en büyük hücreler olup büyüklükleri 15-30 μm kadardır. Düzgün kenarlara sahip olmaları nedeniyle tanınmaları oldukça kolaydır ve bu hücrelerde sferül hücreler gibi hareketsizdirler (Şekil 3.1.5.).



Şekil 3.1.5. Büyük yapıları ile dikkat çeken önositoitler. Ölçek 10 µm.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Böcek kan hücrelerinin oluşum yerleri, hemopoietik organların yapısı, hemositlerin oluşumu, farklılaşması, görevleri gibi konularda değişik görüşleri ileri sürülmektedir (Demirsoy, 2003). Araştırmacılar arasında hemositlerin tüm tiplerinin hemopoietik organlarda farklılaştığı konusunda da görüş ayrılıkları bulunmaktadır. Günümüzde hemositlerin oluşumu ve farklılaşması hakkında farklı teoriler bulunmasına rağmen genel düşünce, prohemositlerin hematopoetik organlarda ilk olarak plazmatositlere farklılaştığı, diğer hemosit tiplerinin ise dolaşıma katıldıktan sonra farklılaştığı ve dolaşımdaki hemosit popülasyonlarının hücre farklılaşmalarından sonra devam eden hücre bölünmeleri ile sağlandığı şeklindedir (Strand, 2008). Bazı böceklerde 30 kadar hemosit tipi ve bunlarında birçok çeşidi tanımlanırken aynı tip hücrelere farklı araştırmacılar farklı adlandırmalar yapmışlardır. Bu durum, hemositlerin dolaşımında, görevleri sırasında veya fizyolojik durumlarına bağlı olarak maruz kaldıkları dönüşümlerden ve bu hücrelerdeki değişken yapısal benzerliklerden kaynaklanmaktadır. Bugüne kadar değişik adlarla tanımlanan 55 hemosit tipi belirtilmiştir (Demirsoy, 2003). Bugün böcek kan hücreleri olan hemositlerin fagositoz, kapsül oluşumu, koagülasyon ve yaraların iyileştirilmesi gibi önemli fonksiyonlarda görev aldığı bilinmektedir. Fakat yine de hemositler yapılarına göre sınıflandırılırken uzun bir süre kesinlik kazanamamıştır. Bir çok araştırmacı, Jones (1970) tarafından yapılan sınıflandırmadan yararlanmış ve hemositleri prohemosit, plazmatosit, granülosit, sitosit, sferül hücre, adipohemosit, podosit, önositoit ve vermiform hücreler olmak üzere adlandırmışlardır. Brehelin, hemositlerde özellikle granülosit tipi hücrelerde granül durumlarını dikkate alarak daha önce yapılan sınıflandırmalardan farklı şekilde sınıflandırmalar yapmıştır. Brehelin, özellikle hemositlerdeki granüllerin, böceğin türüne ve hatta hayat devrelerine göre değişerek oldukça farklı bir durum gösterdiklerini ileri sürmüştür (Brehelin, 1982). Böceklerde çeşitli araştırmacılar tarafından tanımlanan bu 55 farklı hemosit tipi Gupta (1985) tarafından ultrastrüktüel yapıları dikkate alınarak 7 ana tip altında toplanmıştır. Bunlar, Prohemosit, Plazmatosit, Granülosit, Sferül hücreler (sferülositler), Adipohemosit, Önositoit ve Koagülositlerdir (sitositler).

Birçok araştırıcı, farklı böcek gruplarına ait türlerin kan hücrelerini incelemiş ve kan hücrelerinin türlere ait tanımını yapmıştır. *Culex quinquefasciatus* (Diptera)' da altı farklı hemosit tipi belirlenmiştir. Bu kan hücreleri; prohemosit, sferlosit, adipohemosit, Önositoit, plazmatosit ve granlositlerdir (Brayner et al., 2005). *Anastrepha obliqua* (Diptera)' nın larvalarında aynı tip hemositler tespit edilmiştir (Silva et al., 2002). *Armigeres subalbatus* (Diptera) ise sadece dört farklı tipte hücre gözlenmiştir. Bu hücreler, granülositler, önositoitler, adipohemositler ve trombositlerdir (Hillyer et al., 2003).

Dictyoptera takımına ait olan *Blaberus craniifer*, *Periplaneta americana*, *Leucophaea maderae*, *Blattella germanica*, *Pycnocellus surinamensis*, *Sphodromantis bioculato* türlerinde ışık ve elektron mikroskopları yardımıyla yapılan çalışmalarda prohemositlerin hemolenf içinde az oranda bulunan hücreler oldukları, toplam hücre sayısının %1' ini oluşturdukları tespit edilmiştir (Ratcliffe and Price, 1974). Ayrıca prohemositlerin türden tre çok az değişimler gösterdiği, genel olarak küçük, yuvarlak hücreler oldukları, çekirdeklerinin sitoplazmalarına oranının daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Cetonischema aeruginosa (Coleoptera) larvalarında (Giulianini et al., 2003) ve *Triatoma infestans* (Hemiptera) (Hypsa and Grubhoffer., 1997) da hemositler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda küçük çaplı ve büyük çekirdekli prohemositler tanımlanmıştır.

Yapılan alışmada *M. desertus* ergin bireylerinde prohemositlerin merkezde konumlanan oldukça büyük bir çekirdeğe, çekirdeğin etrafını saran dar bir sitoplazmaya sahip oldukları belirlenmiştir. Hemolenf içerisindeki en küçük hücreler olan prohemositler yukarıda bildirilen diğer araştırmacıların çalışmalarıyla benzerlik göstermektedir.

Bir çok araştırıcı hemositler arasında yer alan plazmatositlerin, şekilleri en çok değişiklik gösteren (polimorf) hücreler olduklarını ve hücrelerin oval, mekik, yıldız şeklinde olabileceğini açıklamışlardır. Bu hücrelerin çekirdekleri

hücre tipine göre farklılıklar göstermektedir. Ayrıca yapılan yayma preparatlarda plazmatositlerin tek tek veya gruplar halinde bulunduğunu ve Giemsa ile boyandıklarında sitoplazmanın orta derecede bazofilik olduğunu belirtmişlerdir (Beeman et al., 1983). *Culex quinquefasciatus* (Diptera)'da plazmatositler granüllü ve granülsüz olarak ikiye ayrılmıştır (Brayner et al., 2005). Bu hücrelerin oldukça polimorf oldukları, iğsi formdan yuvarlak formlara kadar bir çok şekle sahip oldukları ve plazma membranında düzensiz uzantılar (yalancı ayaklar) taşıdığı açıklanmıştır (Ratcliffe and Price, 1974).

Yapılan çalışmada *M. desertus* ergin bireylerinde plazmatositler, oval ve mekik şeklinde görülmekle beraber, çekirdek plazmatositin şekline göre değişiklik göstermektedir. Çekirdek genel olarak hücrenin merkezinde yer almaktadır. Plazmatositler yapısal özellikleri nedeniyle diğer hücre tiplerinden kolayca ayırt edilebilmektedirler. Bu sonuçlar yukarıda belirtilen araştırmacıların çalışmaları ile benzerlikler göstermektedir.

Bazı araştırmacılar plazmatositlerin çoğunun küresel şekillere sahip olduğunu bu yüzden ayırt edilmesinin zor olduğunu söylemişlerdir. Yuvarlak tipte prohemosit ile plazmatosit arasındaki en belirgin farkın plazmatositlerdeki sitoplazma çekirdek oranlarının prohemositlerden daha fazla olması olarak belirlenmiştir (Cebesoy ve Ayvalı, 1996). Prohemositler ile plazmatositler arasındaki geçiş evrelerinde olduğu görülen bir çok hücrenin ayırt edilmesinde oldukça zorlanılmıştır. Prohemositler ve plazmatositler arasındaki en önemli farkın plazmatositlerin sitoplazmik alanlarının daha fazla olması, yağ damlacıklarının bulunması ve bunların özellikle çekirdek etrafında yoğunlaşması olduğu belirtilmiştir (Beeman et al., 1983). Aynı şekilde yapılan diğer çalışmalarda da plazmatositlerin sitoplazmalarının içerisinde yağ damlacıkları içerdikleri tespit edilmiştir (Cebesoy ve Ayvalı, 1996).

Böcek kan hücrelerinde yer alan bir diğer hücre tipi olan koagülositler ilk olarak *Locusta migratoria* (Orthoptera)'da tanımlanmıştır (Hoffman, 1970). Bu türde koagülositlerin kan dolaşımında çok çabuk biçim değiştirdikleri ve fikse olmamış preparatlarda koagülositlerin piknotik çekirdekli gibi görüldüğü ifade edilmiştir. Koagülositlerin, *L. migratoria*'da olduğu gibi tüm böcek

türlerinde görüldüğü ileri sürülmüştür (Brehélin and Hoffman, 1980). Koagülositlerin şekil olarak küresel yapıda oldukları ve hücre yüzeyinin pürüzsüz olduğu belirlenmiştir (Saxena, 1992), (Ratcliffe ve Price, 1974). Ayrıca koagülositlerin kırılğan yapıda oldukları bu yüzden bu hücreleri orjinal yapılarında gözlemlemenin zor olduğu belirtilmiştir (Saxena, 1992). Koagülositlerin çekirdek sitoplazma oranının yüksek olması nedeniyle bu hücrelerin prohemositlere benzediği açıklanmıştır. (Ratcliffe and Price, 1974). *L. migratoria*' da ikinci bir tip granüler hücre tanımlanmış ve bu hücre granülosit olarak adlandırılmıştır (Hoffman, 1970). Granülositler şekilleri bakımından çoğunlukla küresel, yuvarlak ve bazen oval şekillerde görülmektedirler. Genel olarak bakıldığında yuvarlak çekirdekleri ve belirli hücre şekilleri nedeniyle her zaman prohemositlerden kolaylıkla ayırt edilememektedirler. Fakat bu hücreler, Giemsa ile yapılan boyamalarda prohemositlere göre daha koyu boyanmaları ve boyutları bakımından daha büyük olmaları nedeniyle ayrılmaktadırlar. Diğer hücreler ile kıyaslandıklarında en büyük farklılıkları içlerinde görülen granülleridir.

Yapılan çalışmada *M. desertus* bireylerinde granülositler şekil olarak çoğunlukla küresel, yuvarlak ve oval yapıda görülmüştür. Giemsa ile yapılan boyama işlemi sonrasında prohemositlere göre daha koyu boyanmaları ve boyutlarının daha büyük olması sonucunda ayırt edilebilmişlerdir. Koagülositlere ise net olarak rastlanmamış, koagülasitlerin kan dolaşımında çok çabuk biçim değiştirebilmeleri ve oldukça kırılğan yapıda olmaları nedeniyle bu hücrelerin gözlemlemenin zor olduğu sonucuna varılmıştır. Elde edilen bulgular araştırmacıların çalışmaları ile paralellikler göstermektedir.

Hemosit tiplerinden bir diğeri de sferülositlerdir. Genelde tipik bir hücre yapısı göstermemektedirler. Bu nedenle pek çok araştırmacı tarafından farklı şekillerde tanımlanmıştır. Bazı Lepidoptera türlerinde *G. mellonella*, *B. mori*, *A. pernyi* ve *S. littoralis*'te bu hücreler birbirlerine benzerken, *M. melolontha* (Coleoptera) veya *L. migratoria* (Orthoptera)'nın sferülositleri farklı şekillerdedir (Neuwirth, 1973), (Lai-Fook, 1973).

Plodia interpunctella (Lepidoptera)' da yapılan çalışmada sferüositlerin fusiform veya küresel şekilde oldukları, merkezi konumlanmış bir çekirdeğe sahip oldukları ve sitoplazmalarındaki sferüller nedeniyle kolaylıkla tanındığını tespit etmişlerdir (Beeman et al., 1983)

Agrotis segetum (Lepidoptera)' da sferül hücrelerin yuvarlak veya oval şekilde buldukları, herhangi bir sitoplazmik uzantılarının gözlenmediği belirlenmiştir. İçlerindeki küresel yapıları nedeniyle bu hücrelerin kolayca tanınabildiği, bu küresel yapıların sitoplazmanın büyük bir kısmını doldurması nedeniyle sitoplazmanın ışık mikroskopunda görülemediği belirtilmiştir (Cebesoy ve Ayvalı, 1996).

Bazı araştırmacıların yaptığı yayma preparatlarda, sferül hücrelerin hemositler içerisinde daha az sıklıkta rastlanan hücreler olduğu ileri sürülmüştür (Brayner et al., 2005), (Lai-Fook, 1973).

Yapılan çalışmada *M. desertus* bireylerinde nadir olarak görülen hemosit tipi sferül hücrelerdir. Bu hücrelerde dağınık halde ve çok sayıda sferüller bulunmakla beraber, bu durum hücrelerin parçalanmış gibi görünmesine neden olmaktadır. Preparatlarda yapılan incelemeler sonunda sferül hücrelerin oval veya yuvarlak şekilde oldukları ve bu hücrelerin içinde küçük sferül tanelerinin bulunduğu tespit edilmiş, sferüllerin bazen çekirdeği örttüğü görülmüştür. Çekirdeğin hücre içerisindeki konumu sferüllerin dizilimine bağlı olarak değişmekle birlikte, genellikle ortada konumlanmıştır. Elde edilen sonuçlar yukarıda adı geçen araştırmacıların çalışmaları ile benzerlikler taşımaktadır.

Hemosit tiplerinden bir diğeri olan önositoitler, bugüne kadar çalışılan böcek türlerinin çoğunda tespit edilmiştir. Oldukça büyük ve geniş yapılı hücrelerdir. *Cetonischema aeruginosa* (Coleoptera) larvalarında (Giulianini et al., 2003), *Triatoma infestans* (Hemiptera) (Hypša and Grubhoffer., 1997) 'da önositler içerilerinde çok büyük granüller yerleşmiş hücreler olarak tanımlanmışlardır. Yapılan çalışmada *Agrotis segetum* (Lepidoptera)' da önositoitler yuvarlak ve oval şekillerde belirlenmiş olup, çekirdek sitoplazma

oranı diğer hemosit tipleri ile kıyaslandığında çekirdek diğer hücelere göre çok küçük olmakla birlikte genellikle hücrenin kenarına yakın olarak konumlanmıştır. Ayrıca bu hücrelerin sitoplazmalarında değişik şekillerde kristal gibi yapılara rastlanmış olduğu ve sitoplazmalarında lipid damlacıklarının görüldüğü belirlenmiştir.

Yapılan çalışmada *M. desertus* bireylerinde önositoitler genellikle yuvarlak ve oval şekillerde olup hücrenin çekirdeği genel olarak kenara yakın olarak konumlanmıştır. Çekirdek oldukça küçük olarak yer almaktadır. Bazı yuvarlak ve oval şeklindeki önositoitlerde çeşitli şekillerde kristalimsi yapılar görülmüştür. Hemositler arasındaki en büyük hücreler olan önositoitler yukarıda adı geçen araştırmacıların çalışmaları ile benzerlikler göstermektedir.

İncelenen *M. desertus* bireylerinde hemositlerden plazmatositler, sferül hücreler ve önositoitler yapılan yayma preparatlarda çok değişik şekillerde ve büyüklüklerde tespit edilmiştir. Bu yüzden birbirlerinden ayırt edilmeleri oldukça kolay olmuştur. Fakat, geri kalan prohemositler ve granüositler yapısal olarak diğer hücreler gibi çok fazla ayırt edici özelliğe sahip olmadıklarından, çok değişik şekillere sahip olmadıklarından ve genel olarak aynı yapı ve şekil benzerliği gösterdiklerinden dolayı ayırt edilmeleri oldukça zor olmuştur. Aynı şekilde birçok araştırmacı tarafından da farklı böcek gruplarına ait türlerde yapılan çalışmalarda da bu hücrelerin tespitinin zor olduğu ifade edilmektedir.

M. desertus bireylerinde en fazla sıklıkta bulunan hücreler prohemositler, plazmatositler ve granüositler olmuştur. Bu hücreleri önositoitler ve sferüositler takip etmiştir. Çalışmada kan hücrelerinin değişik sayılarda bulunması ve bu hücrelerin farklı hücre tiplerine dönüşebilmeleri bu hücrelerin bölünebilir özellikte olduklarını ve diğer pek çok türde de belirtildiği gibi fagositoz, kapsül oluşumu, koagülasyon ve yaraların iyileştirilmesi gibi önemli faaliyetlere katılabileceğini göstermektedir (Lavine and Strand, 2002). Ayrıca bazı hücre tiplerinin morfolojik olarak birbirlerine oldukça fazla benzerlik göstermesi hücrelerin görev veya gelişim evreleri

sırasında birbirine dönüşebileceklerini ve bunların geçiş formları olabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Beeman, S.C., Wilson, M.E., Bulla Jr., L.A. and Consigli, R.A.,** 1983, Structural characterization of the hemocytes of *Plodia interpunctella*. Journal of Morphology 175: 1-16.
- Brayner, F.A., Araujo H.R.C., Cavalcanti, M.G., Alves L.C. and Peixoto, C.A.,** 2005, Ultrastructural characterization of the hemocytes of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Micron 36: 359-367.
- Brehélin, M.,** 1982, Comparative study of structure and function of blood cells from two *Drosophila* species. Cell Tissue Res. 221: 607–615.
- Brehélin, M. and Hoffman, J.A.,** 1980, A phagocytosis of inert particles in *Locusta migratoria* and *Galleria mellonella* study of ultrastructure and clearance. J. Insect Physiol. 26: 103-111.
- Cebesoy, S. ve Ayvalı, C.,** 1996, *Agrotis segetum* (Dennis ve Schiff.) (Lepidoptera: Noctoidae) hemositlerinde bazı histokimyasal incelemeler. Turkish Journal of Zoology 20: 231-239.
- Demirsoy, A.,** 2003, Yaşamın Temel Kuralları, Omurgasızlar/ Böcekler, Entomoloji. Cilt II/ Kısım II, II. Baskı, Meteksan Matbaacılık, Ankara, 119-122.
- Giulianini, P.G., Bertolo, F., Battistella, S. and Amirante, G.A.,** 2003, Ultrastructure of the hemocytes of *Cetonischema aeruginosa* larvae (Coleoptera, Scarabeidae): involvement of both granulocytes and oenocytoids in vivo phagocytosis. Tissue and Cell 35: 243-251.
- Gupta, A.P.,** 1985, Cellular elements in hemolymph. In: Kerkut, G.A., Gilbert, L.I. (Eds.), Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology, vol. 3. Pergamon Press, Oxford, pp. 401-451.
- Gümüşsuyu, İ.,** 1973, Orta Anadolu Bölgesinde Kültür Bitkilerine Zarar Yapan Karaçekirge (*Melanogryllus desertus* Pall.) 'nin (Orthoptera: Gryllidae) Biyo-Ekolojisi Üzerine Araştırmalar, Yenigün Matbaası, Ankara, 92s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hillyer, J.F., Schmidt, S.L. and Christensen, B.M.,** 2003, Hemocyte-mediated phagocytosis and melanization in the mosquito *Armigeres subalbatus* following immune challenge by bacteria. Cell and Tissue Research 313: 117-127.
- Hoffman, J.A.,** 1970, Regulations endocrines de la production et la differentiation des hemocytes chez un insect *Locusta migratorioides*. Gen. Comp. Endocrin, 15: 198-219.
- Hypša, V. and Grubhoffer, L.,** 1997, Two hemocyte populations *Triatoma infestans*: ultrastructural and lectin-binding characterization. Folia parasitologica, 44: 62-70.
- Jones, J.C.,** 1970, Hemocytogenesis in insects. In: Gordon, A.S. (Ed.), Regulation of Hematopoiesis. Appleton Press, New York, pp. 7-65.
- Lai-Fook, J.,** 1973, The structure of the hemocytes of *Calpodis ethlius* (Lepidoptera). J. Morph, 139: 79-104.
- Lavine M.D. and Strand, M.R.,** 2002, Insect hemocytes and their role in immunity. Insect Biochem Mol Biol 32:1295–309
- Neuwirth, M.,** 1973, The structure of the hemocytes of *Galleria melonella* (Lepidoptera). J. Morph. 139: 105–124.
- Öner, H.D.,** 2010, *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771) (Orthoptera: Gryllidae) hemositleri üzerine 2.4-D (Diklorofenoksiasetik Asit)' nin etkileri (Yüksek Lisans Tezi).
- Ratcliffe, N.A. and Price, C.D.,** 1974, Correlation of light and electron microscopic hemocyte structure in the Dictyoptera. J. Morfol. 144:485-498.
- Saxena, B.P.,** 1992, Comparative study of haemocytes of three lepidopterans by light and scanning electron microscopy. Acta Entomologica Bohemoslovenica. 89: 323-329.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Silva, J.E.B., Boleli, I.C. and Simoes, Z.L.P., 2002, Hemocytes types and total differential counts in unparasitized and parasitized *Anastrepha obliqua* (Diptera, Tephritidae) larvae. Braz. J. Biol. 62: 689-699.

Strand, M.R., 2008, The insect cellular immune response. Insect science, vol. 15: 1-14.

ÖZGEÇMİŞ

Beklan Eren ÖZKAN, 1983 yılında Edirne' de doğmuştur. İlk ve orta öğrenimini Edirne'de tamamlamıştır. 2003 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümüne kayıtlanmıştır. 2008 yılında lisans eğitimini tamamlayıp, aynı yıl Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Zooloji Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine başlamıştır.