

**T.C**  
**EGE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**İPEKBÖCEKLERİNDE (BOMBYCİDAE: BOMBYX MORI)  
BESİN MİKTARINA BAĞLI OLARAK SİNDİRİM  
BORUSUNUN GELİŞİMİ**

**Meryem ERSEYİS**  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Bilim Dalı Kodu: 401.02.00  
Sunuş Tarihi:08/01/2009

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ayla ÖBER**

Bornova-İZMİR

2009



Sayın **Meryem ERSEYİS** tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak sunulan “**İpekböceklerinde (Bombycidae: Bombyx mori) Besin Miktarına Bağlı Olarak Sindirim Borusunun Gelişimi**” 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 .....tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oy çokluğu ile başarılı bulunmuştur.

-

Jüri Üyeleri:İmza

Jüri Başkanı	: .....	.....
Raportör Üye	: .....	.....
Üye	: .....	.....



## ÖZET

### İPEKBÖCEKLERİNDE (BOMBYCİDAE: BOMBYX MORI) BESİN MİKTARINA BAĞLI OLARAK SİNDİRİM BORUSUNUN GELİŞİMİ

ERSEYİS, Meryem

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Ayla ÖBER

Ocak 2009, 35 Sayfa

Canlıların gelişimi sırasında beslenme, hücre ve dokuların büyümesinde olduğu kadar canlılık fonksiyonlarının yerine getirilmesinde de önemlidir. Beslenmeye bağlı olarak büyümeyi ve gelişmeyi kontrol eden faktörlerin başında **besin miktarı** ve **beslenme düzeni** gelmektedir. Açlığa maruz bırakılan böcek larvalarında gelişimin daha geç olduğu belirtilmektedir.

Bu çalışmada *Bombyx mori* larvalarının besin miktarı ile ilişkili olarak sindirim borusu histo-morfolojisinin belirlenmesinde kontrol grubu larvalarına göre az besinle beslenen larvaların sindirim borusunun daha kısa boyutlu olduğu saptanmıştır. *Bombyx mori* kontrol grubu 5. instar larvaların orta barsağının epitel tabakasında yer alan silindirik ve goblet hücrelerinin morfolojileri belirlendikten sonra daha az miktar dut yaprağı verilen 2 ayrı grup larvanın epitel tabakalarına bakıldığında, besin azlığının orta barsakta meydana getirdiği farklılık görülebilmektedir. Normalin altında beslenen larvaların silindirik ve goblet hücrelerinin aktivitelerinde düşüşler ve morfolojik olarak sitoplazmaları ile nukleuslarında bozulmalar-vakuolleşmeler olduğu ayırt edilmektedir.

Elde edilen sonuçlar; normal miktarlarda besin alınmaması durumunda, barsaktan gerekli maddelerin emiliminde en önemli rolü üstlenen epitel dokuda

bozunmaların meydana geldiğini göstermekte, *Bombyx mori* larvalarının sağlıklı gelişme gösterebilmeleri için normal miktarın altında yaprakla beslenmemeleri gerekliliğini işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Bombyx mori*, orta barsak hücreleri, besin stresi,

## ABSTRACT

### DEVELOPPEMENT OF DIGESTIVE SYSTEM IN SILKWORM (BOMBYCIDAE: BOMBYX MORI) ACCORDING TO NUTRITION QUANTITY

ERSEYİS, Meryem

M.SC in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Ayla ÖBER

January 2009, 35 Pages

During the development of living thing, nutrition is important for the growth of cells and tissues as to be carried out functions of liveliness, too. In the top of factor which control the growth and development related to nutrition, there is **nutrition quantity** and **feeding period**. It's indicated tahat in the insect larvae starvation the development occurs later.

In this project, to determine the histo-morphology of digestive canal, larvaes of *Bombyx mori* related to nutrition quantity. It's determined that the digestive canal of the larvaes which are fed with less food than control group larvaes has less short dimension. After the morphology of columnar and goblet cells which place in the epithelium layer of midgut of the *Bombyx mori* control group five instar larvaes is determined, when the epithelium layers of two seperated group larvaes given less quantity of *Morus alba* leaf examined, the difference in the midgut that lack of nutrition cause can be seen. In the larvaes fed less than normal it's distinguished that columnar and goblet cells activities decreases and in their cytoplasmes and nucleus have vokuol.

The results obtained; in the condition of lack of nutrition, it shows that there are vokuol in epithelium tissues which has the most important role for the

absorption of the necessary substances, the results it indicates that the necessity of not feeding with leaves under normal quantity to show, development of the *Bombyx mori* larvae.

**Key Words:** Bombyx mori, midgut cells, nutrition stres,



## TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarım sűresince, daima deęerli bilgilerini, katkılarını ve önerilerini esirgemeyen, her zaman yanımda hissettięim deęerli hocam Prof. Dr. Ayla ÖBER' e teŐekkűrlerimi sunarım.

ÇalıŐmam boyunca yanımda olan ablam Dr. Gamze TURGAY İZZETOğLU'na, ipekböceği yetiŐtirme döneminde yardımcı olan tüm arkadaşlarıma, eŐim Korhan AKALİN ve yanımda olup desteklerini esirgemeyen annemiz Sevim AKALİN, babamız Gökhan AKALİN'e teŐekkűrü bir borç bilirim.

Ayrıca bu çalıŐmayı 2008 Fen 027 no'lu proje kapsamında parasal olarak destekleyen Ege Ŭniversitesi Rektörlüęü AraŐtırma Fon Saymanlığı'na teŐekkűrlerimi arz ederim.



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Kontrol grubu 5. instar 0. gün sindirim borusu morfolojisi.....	11
3.2. 2.grup 5. instar 0. gün sindirim borusu morfolojisi.....	11
3.3. 1.grup 5. instar 0. gün sindirim borusu morfolojisi.....	11
3.4. Kontrol grubu 5. instar sonuncu gün sindirim borusu morfolojisi.....	12
3.5. 2.grup 5. instar sonuncu gün sindirim borusu morfolojisi.....	12
3.6. 1.grup 5. instar sonuncu gün sindirim borusu morfolojisi.....	12
3.7. Sindirim borusu genel tabakaları (H&E).....	13
3.8. Epitel hücrelerin apikalinde peritrofik membran ( → peritrofik membran) (PAF).....	14
3.9. Kontrol grubu 5. instar 0. gün villus yapısı ( → silindirik hücre) (PAS).....	14
3.10. Kontrol grubu 5. instar 0. gün orta barsak hücreleri ( → goblet hücre açıklığı) (H&E).....	15
3.11. Kontrol grubu 5. instar 0. gün silindirik ve goblet hücrelerinin salgıları (H&E).....	15
3.12. Kontrol grubu 5. instar 0.gün orta barsak hücreleri ( → silindirik hücreler) (PAS).....	16
3.13. 2. grup 5. instar 0. gün hücrelerinin genel görünüşü (H&E).....	17
3.14. 2. grup 5. instar 0. gün silindirik ve goblet hücreleri ( → silindirik hücreler) (H&E) .....	17
3.15. 2. grup 5. instar 0. gün lümende proteinik salgı (PAS).....	18
3.16. 1. grup 5.instar 0. gün silindirik ve goblet hücreleri ( → silindirik hücreler) (PAS).....	19
3.17. 1. grup 5.instar 0. gün silindirik ve goblet hücreleri ( → silindirik hücreler) (PAS).....	19

<b><u>Sekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>3.18.</b> 1. grup 5. instar 0.gün lümene verilen proteinik salgı.....	20
<b>3.19.</b> Kontrol grubu 5. instar sonuncu gün orta barsak hücreleri ( → silindirik hücre) (PAS).....	21
<b>3.20.</b> Kontrol grubu 5. instar sonuncu günde lümene verilen salgılar ( → silindirik hücre) (PAS) .....	21
<b>3.21.</b> Kontrol grubu 5. instar sonuncu günde orta barsak hücreleri.....	22
<b>3.22.</b> 2. grup 5. instar sonuncu gün goblet ve silindirik hücreler ( → silindirik hücre) (PAS).....	23
<b>3.23.</b> 2. grup 5. instar sonuncu gün goblet ve silindirik hücreler ( → silindirik hücre) (PAS).....	23
<b>3.24.</b> 2. grup 5. instar sonuncu gün orta barsak hücreleri ( → hücre sınırları) (PAS).....	24
<b>3.25.</b> 2. grup 5. instar sonuncu gün lümene verilen proteinik salgı (PAS).....	24
<b>3.26.</b> 1. grup 5. instar sonuncu gün orta barsak hücreleri ( → nukleus içinde vakuolleşme) (PAS).....	25
<b>3.27.</b> 1. grup 5. instar sonuncu gün orta barsak hücreleri ( → nukleus içinde vakuolleşme) (PAS).....	26
<b>3.28.</b> 1. grup 5. instar son gün sınırları kaybolmuş hücreler ( → hücre sınırları) (PAS).....	26
<b>3.29.</b> 1. grup 5. instar son gün lümene verilen proteinik salgı (PAS).....	26

**TABLO DİZİNİ**

<b><u>Sekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
2.1. 50 larva için öğünlere göre yaprak miktarı.....	6



## SİMGELER VE KISATMALAR DİZİNİ

µm	-Mikrometre
Bd	-Bağ doku
dk	-dakika
Ed	-Epitel doku
Eh	-Epitel hücleri
G	-Goblet hüclresi
gr	-Gram
Gv	-Goblet hücre vakuölü
Kd	-Kas doku
L	-Lümen
lt	-Litre
ml	-Mililitre
mm	-Milimetre
Ms	-Mukus salgısı
N	-Nukleus
Nv	-Nukleus vakuölü
OB	-Orta barsak
ÖB	-Ön barsak
Pm	-Peritrofik membran
Ps	-Proteinik salgı
S	-Sitoplazma
SB	-Son barsak
T	-Trake
V	-Vakuol





## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
TEŞEKKÜR.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
TABLO DİZİNİ.....	XIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XV
1. GRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE METOD.....	5
2.1.Besleme Odasının Hazırlanması ve Dezenfekte Edilmesi.....	5
2.2. Besleme Odasının Optimum Şartları.....	5
2.3. Yetiştirilmesi.....	5
2.4. Morfolojinin Belirlenmesi İşlemleri.....	7
2.4.1. Genel Yapıyı Gösterme.....	7
2.4.2.Histolojik Preparasyon.....	7
3.BULGULAR.....	10
4.TARTIŞMA.....	27
KAYNAKLAR.....	32
ÖZGEÇMİŞ.....	35

## 1.GİRİŞ

Canlıların yaşam süreçlerinde olumsuz birçok faktör gibi, besin miktarındaki yetersizlik de bazen ölümcül streslere yol açmaktadır. Çok farklı şekillerde izlenen bu etkiler davranış, gelişme, üreme ve metabolik aktivitelerde görülebileceği gibi ölüme de neden olmaktadır. Araştırmalarda besin azlığı ya da açlığın etkileri farklı canlılarda ele alınmıştır.

Çalışma objelerinden olan holometabol böceklerde de evreler boyunca besin azlığına değinilmiş ve larvalarda gelişmenin geç, vücut büyüklüğünün normalin altında olduğu bir çok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur (Chapman, 1969; Nijhout, 1975; Nijhout ve Williams, 1974a,b; Nijhout ve Gurnet, 1998; Stern ve Elmen, 1999; Day ve Lawrence, 2000; D'amico ve ark., 2001; Britton ve ark., 2002; Ikeya ve ark., 2002).

Böceklerde sindirim borusu ağızla başlayan ve anüsle son bulan bir tüp şeklindedir (Mathur, 1973). Bu tüp yapısal ve fonksiyonel olarak ön barsak (stomodaeum, foregut), orta barsak (mesenteron, midgut) ve arka barsak (proctodaeum, hindgut) olmak üzere 3 ana bölümden meydana gelmektedir. Ön barsak ve son barsak ektodermal, orta barsak endodermal orjinlidir. Ön barsak; bazı böceklerde farinks, özofagus, kursak ve proventrikulus, orta barsak; çekum ve ventrikulus, son barsak ise pilor, ileum ve rektum olarak bölümlere ayrılmaktadır (Chapman, 1969; Judy ve Gilbert, 1970; 1999; Gerard, 2002; Nation, 2002; Uwo ve ark., 2002; Levy ve ark., 2004). Bu bölgeler anatomik veya fizyolojik olarak farklı fonksiyonlar üstlenmiştir. Ön barsak çoğunlukla besinlerin depolanmasını ve bazen besinlerin orta barsağa iletilmesini gerçekleştirmektedir. Orta barsağın hassas bir membrana sahip olduğu, enzim üreterek besin sindiriminde ve besinlerin absorpsiyonunda görev aldığı Chapman (1969) tarafından belirtilmiştir. Son barsağın sindirilmemiş besinlerin anüse iletilmesinde fonksiyon üstlendiği, rektumun ise suyun ve tuzun geri emilimini sağladığı da bildirilmiştir. Sindirim sistemi somatogastrik ve merkezi

sinir sistemindeki motor sinirler tarafından uyarılmakta ve besinlerin sindirim borusu boyunca hareketi sağlanmaktadır.

Tek katlı epitel ile döşeli olan sindirim borusunda; epiteli saran ve besleyen bağ doku ile sindirim borusunun kasılmalarını sağlayan enine-boyuna kas tabakası ve trakeler bulunmaktadır (Chapman, 1969; Judy ve Gilbert, 1970; Matur, 1973; Mall, 1980; Sadrud-Din ve ark., 1994-1996; Hakim ve ark., 2001; Gerard, 2002; Nation, 2002; Cermenati ve ark., 2007).

Ön ve arka barsaktaki ektodermal orijinli epitel hücreleri, lümene kütiküler bir madde salgılayarak bir tabaka oluşturmaktadırlar (Chapman,1969; Judy ve Gilbert, 1970; Mathur, 1973; Mall, 1980; Uwo ve ark., 2002,). Kitinöz ve proteinik materyalden oluşan bu tabaka vücut yüzeyindeki epikütikül ve endokütikül ile aynı özellikte olup yüksek oranda impermeable'dır. Ön barsakta yer alan epitelin yassı-keratinize hücrelerden meydana geldiği ve sindirim enzimi üretmediği Chapman (1969), Nation (2002) tarafından belirtilmiştir.

Orta barsak, kütiküler tabaka yerine endoderm orijinli peritrofik membran içermektedir. Bu membran orta barsağın başından sonuna kadar besinlerin iletilmesinde görev alan bir yapıdır. Epitel hücreleri ile besinlerin iletimini sağlayan ve hücreleri koruyan bu membranda kitinöz elemanlar, protein ve glikoprotein bulunmaktadır. Enzim ve monomerlere (su, tuz, glikoz ve amino asid) karşı membranın permeabl bir yapısı olduğu da aynı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

Böceklerle yapılan ilk çalışmalarda orta barsak epitelinin silindirik ve rejeneratif hücrelerden meydana geldiği görüşünde olan bilim adamları daha sonra yapılan çalışmalarda birkaç farklı hücre tipine rastlamışlardır. Lepidopter larvalarının orta barsak epitelinde farklı fonksiyonlar üstlenmiş hücreler bazal membran üzerinde yer almaktadırlar. Bu hücreler silindirik, goblet, endokrin ve rejeneratif (stem cells) hücreler olarak adlandırmaktadırlar (Anderson ve Harvey, 1966; Chapman, 1969; Judy ve Gilbert, 1970; Mathur, 1973; Flower,

1976; Mall, 1980; Baldwin, 1993; Sadrud-Din ve ark., 1994-1996; Hakim ve ark., 2001; Gerard, 2002; Nation, 2002; Uwo ve ark., 2002; Levy ve ark., 2004; Cermenati ve ark., 2007). Silindirik hücreler enzim salgılamada ve absorpsiyonda görev alırlar. Proteinik salgı sitoplazmada granüller şeklinde oluşturulmakta ve salgı vakuelleri halinde mikrovillüslerin de katkısıyla holokrin, apokrin ve merokrin yol ile lümeneye verilmektedir. Goblet hücreleri ise mukus salgılamakla görevlidirler. Rejeneratif hücrelerin bozulan silindirik ya da goblet hücrelerinin yerine yenilerini oluşturdukları belirtilmektedir (Chapman, 1969).

Normal besin alan *Hyalophora cecropia* larvalarının orta barsağında silindirik ve goblet hücrelerinin, uyuyan larvaların barsak epitelinde ise ayrıca üçüncü hücre tipi olan rejeneratif hücrelerin varlığı tanımlanmıştır. Sindirim borusu histolojisinde sözü edilen hücre tipleri ve özellikleri Anderson ve Harvey (1966) ile Judy ve Gilbert'in (1970) çalışmalarında detayla verilmektedir.

*Hofmannophila pseudospretella*, *Marasmia trapezalis* ve *Prodenia litura* ile çalışan Gerard (2002), Mall (1980), Matur (1973) silindirik, goblet ve rejeneratif olmak üzere orta barsakta üç tip hücrenin yer aldığını belirtmişlerdir. *Galleria mellonella*'da bu üç hücre dışında nörosekresyon hücrelerine rastlanmıştır (Uwo ve ark., 2002). *Hofmannophila pseudospretella* dışındaki örneklerde; küçük boyutlu rejeneratif hücrelerin, silindirik ve goblet hücrelerinin çevrelerinde bulunan gruplar içinde (3-5 hücre) yer aldıkları ifade edilmektedir. Araştırmacılar bu hücre gruplarına **nidus** adını vermişlerdir. *Hofmannophila pseudospretella*'da ise rejeneratif hücreler bazal membran üzerinde yer almaktadır (Gerard, 2002).

Baldwin (1993), Sadrud-Din ve ark. (1994-1996) ile Hakim ve ark. (2001) tarafından *Manduca sexta*'da yapılan çalışmalarda da orta barsakta silindirik, goblet ve rejeneratif hücrelerin bulunduğu işaret edilmiştir.

Silindirik hücreler arasında 3-6 arasında değişen sayıda goblet hücrelerinin olduğu ve rejeneratif hücrelerin bazal membranda yer aldığı gösterilmiştir.

*Anticarsia gemmatalis*'in orta barsak epitelinde silindirik, goblet, rejeneratif ve endokrin olmak üzere 4 farklı hücreden söz edilmektedir (Levy ve ark. 2004).

Ayrıca son barsağın ön barsağa göre daha geçirgen bir kitin zara ve ön barsağa göre daha kübik görünen epitel hücrelerine sahip olduğu belirtilmektedir (Chapman, 1969; Nation, 2002).

Böceklerdeki sindirim sistemi histo-morfolojisi göz önüne alındığında, sindirim borusu histolojisinde besin miktarına bağlı olarak meydana gelebilecek olası yapısal değişikliklerin ortaya konulması bu çalışmada amaçlanmış ve araştırmanın yönü buna göre planlanmıştır.

## 2. MATERYAL VE METOD

Çalışma materyali olan ipekböceğini uygun dönemde elde etmek üzere Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünde bulunan “İpekböceği Yetiştirme Laboratuvarı” uygun koşullara getirilerek çalışmaya başlanılmıştır.

### 2.1. Besleme Odasının Hazırlanması ve Dezenfekte Edilmesi

Yetiştirme dönemi başlamadan 10 gün önce ipekböceklerinin besleneceği odanın bakımı ve kullanılacak materyalin temizlenip dezenfekte edilmesi gerekmektedir. Dezenfeksiyon için oda kireç badana yapıp, kullanılacak malzemeler yıkanmıştır. Bu malzemenin dezenfeksiyonu için de %3'lük olarak hazırlanan formaldehid oda içinde kaynatılmış ve buhar yolu ile sterilizasyon yapılmıştır (İpekböcekçiliği ve Dutçuluk seminer notları, 1985). Bu işlemler yumurtalar inkübasyona bırakılmadan 4-5 gün önce tamamlanmıştır.

### 2.2. Besleme Odasının Optimum Şartları

İpekböceklerinin gelişiminde sıcaklığın önemli bir rolü olduğundan odanın optimum sıcaklığı  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  olacak şekilde klimadan yararlanılarak ayarlanmıştır. Gelişimi etkileyen ikinci etmen olan nisbi nemi (%70-90) ayarlamak içinde oda içerisinde su kaynatılmıştır. *Bombyx mori* larvalarının solunumu esnasında ortaya çıkacak  $\text{CO}_2$  gazının birikimini önlemek için odada sirkülatör kullanılmıştır. Ortamdaki ışık ise uzun gün periyoduna uygun olarak 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olmak üzere programlanmıştır (İpekböcekçiliği ve Dutçuluk seminer notları, 1985; Ayuzawa, 1972; Parlak, 2001).

### 2.3. Yetiştirilmesi

Çalışma materyalini oluşturan evcil ipekböceği *Bombyx mori* yumurtaları Koza Birlik'ten 2007 yılı mart ayında temin edilmiş, nisan ayında inkübasyona

bırakılmış ve yumurtadan çıkışları takiben besleme işlemine başlanmıştır. Larvaların beslenmeleri için dut yaprakları Ege Üniversitesi Kampüsü'ndeki ağaçlardan toplanmıştır. Besine bağlı olarak sindirim borusunun gelişimini izlemek üzere üç ayrı grup oluşturularak besleme yapılmıştır.

Her ipekböceği yaşam devrini sağlıklı bir şekilde tamamlamak için bu süreçte 30gr besine ihtiyaç duymaktadır. 30gr yaprağın %2'ni 1., 2. ve 3. instarda, %10'luk kısmını 4. instarda ve %88'lik kısmını ise 5. instarda tüketerek yaşam devrini tamamlamaktadır.

Kontrol grubuna günde üç kez besleme (sabah-öğle-akşam) yapıp, 1. instardan 5. instar sonuna kadar ve her larvaya 30gr düşecek şekilde yaprak verilmiştir. Birinci gruba günde bir kez (öğle) besleme ve her larvaya 10gr yaprak, ikinci gruba günde iki kez besleme (sabah-akşam) ve her larvaya 20gr yaprak düşecek şekilde besleme yapılmıştır.

50 bireyden oluşan gruplara öğünlere göre verilen yaprak miktarı Tablo 2.1'de görülmektedir. Birinci grup kontrol grubunun 1/3 kadar, ikinci grup ise 2/3 kadar besin tüketmiştir.

Larval evre	Sabah (gr)			Öğle (gr)			Akşam (gr)		
	Kontrol grubu	2. grup	1. grup	Kontrol grubu	2. grup	1. grup	Kontrol grubu	2. grup	1. grup
1. instar	0,6	0,6		0,6		0,6	0,6	0,6	
2. instar	0,83	0,83		0,83		0,83	0,83	0,83	
3. instar	1,6	1,6		1,6		1,6	1,6	1,6	
4. instar	12,5	12,5		12,5		12,5	12,5	12,5	
5. instar	55	55		55		55	55	55	

Tablo 2.1. 50 larva için öğünlere göre yaprak miktarı

Besin miktarına bağlı olarak larvaların sindirim borusu histolojisine bakılacağından sindirim sisteminin disseksiyon kolaylığı için larvaların

büyüklüğü ile doğru orantılı olarak 5. instar 0. gün ile sonuncu gün larvaları tercih edilmiştir.

## **2.4. Morfolojinin Belirlenmesi İşlemleri**

### **2.4.1. Genel Yapıyı gösterme**

Total olarak sindirim borusunu gösterebilmek amacıyla parafinli petri içinde Ephruse ve Beadle'ın böcek fizyolojik suyu kullanılarak 5. instar larvaları dissekte edilmiş ve E.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı ZDEU Müzesi'ndeki Edwards Olympus 7Mp dijital fotoğraf makinesi ile fotoğrafları çekilmiştir.

Bombyx mori lavalарının total olarak sindirim borularının boyutları ölçüldükten sonra gruplar arasında farklanma olup olmadığına bakılmak amacıyla ölçümlerden elde edilen değerler One away Anova testine tabi tutulmuştur. One away Anova testi gözleme ya da deneye dayanan bir çalışmada üç ya da daha fazla ortalamanın eşitliğini varyans analizi ile ortaya koymaktadır. Değerler %5 hata payı (p) verilerek teste tabi tutulmuştur ( $p < 0.05$ ).

### **2.4.2. Histolojik preparasyon**

Sindirim borusundaki dokuların detaylı gösterilmesi amacıyla histolojik preparasyon teknikleri uygulanmıştır. Dissekte edilen larvaların sindirim borusu total olarak Bouin fiksatif ile tespit edilmiş, Hematoksilen-Eozin, Periodik Asit Schiff (PAS), Paraldehit Fuksin (PAF) boya metodları uygulanmıştır (Presnell ve Schreibman, 1997; Öber, 2004). Ancak PAF boyası ile iyi sonuç alınmadığı için preparat fotoğrafları değerlendirilmeye alınmamıştır. Boya metodlarından Hematoksilen-Eozin genel yapıları göstermede, PAS ise karbonhidrat ve protein içerikli yapıları ortaya koyma amaçlı kullanılmıştır.

Uygulama basamakları tamamlandıktan sonra preparatların incelenmesi için "Jena marka NF" tipi mikroskop ve fotoğraf çekimi için "Olympus CX31-Altra 20 soft imaging system"den yararlanılmıştır.



Çalışmada kullanılan böcek fizyolojik suyunun, tesbit ve boya solusyonlarının hazırlanışları ile uygulama basamakları aşağıda verilmektedir:

**Fizyolojik su** (*Ephruse ve Beadle'in böcekler için olan karışımı*)

- NaCl ..... 7.5gr
- KCl ..... 0.35gr
- CaCl<sub>2</sub> ..... 0.21gr
- Saf su ..... 1lt'ye tamamlanır.

**Fiksatif** (*Bouin fiksatif*) hazırlanması:

- doymuş pikrik asit ..... 75ml
- %40 formaldehit ..... 25ml
- asetik asit ..... 5ml

**Boya metodları - solusyonları**

*Mayer'in Hematoksilen-Eozin'i:*

- 1-fiksasyon (*Bouin*)
- 2-yıkama (%70 alkol)
- 3-dehidrasyon (%70, 96, 100 alkol) .... 15'er dk
- 4-şeffaflaştırma (*ksilol*) ..... 15 dk (2 defa)
- 5-parafine gömme
- 6-trimleme
- 7-kesit alma (5 $\mu$ )
- 8-deparafinize işlemi (*ksilol*) ..... 15 dk (2 defa)
- 9-hidrasyon (%100, 96, 70 alkol) ..... 15'er dk
- 10-boyama (*Hematoksilen*) ..... 30 dk
- 11-yıkama (*akar su*) ..... mavileşene kadar
- 12-boyama (*Eosin*) ..... 5 dk
- 13-yıkama (*saf su*)
- 14-dehidrasyon (%70, 96, 100 alkol) .... 5, 10, 15 dk
- 15-şeffaflaştırma (*ksilol*) ..... 15 dk (2 defa)
- 16-preparatı kapama (*balsam*)

*Mayer'in Hematoksilen boyasının hazırlanması:*

- hematoksilen ..... 1gr
- saf su ..... 1000ml
- NaIO<sub>3</sub> ..... 0.2gr
- Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>24H<sub>2</sub>O ..... 50gr
- sitrik asit ..... 1gr
- kloral hidrat ..... 50gr

*Eozin boyasının hazırlanması:*

- eozin ..... 1gr
- saf su ..... 100ml

*Periodik Asit Schiff (PAS) boya metodu:*

- 1-fiksasyon (Bouin)
- 2-yıkama (%70 alkol, akar su)
- 3-dehidrasyon (%70, 96, 100 alkol) .... 15'er dk
- 4-şeffaflaştırma (ksilol) ..... 15 dk (2 defa)
- 5-parafine gömme
- 6-trimleme
- 7-kesit alma (5 $\mu$ )
- 8-deparafinize işlemi (ksilol) ..... 15 dk (2 defa)
- 9-hidrasyon (%100, 96, 70, 50, 30 alkol) 15'er dk
- 10-%0,5 periodik asit ..... 5 dk  
(0.5gr periodik asit ve 100ml saf su)
- 11-yıkama (saf su)
- 12-boyama (Schiff reaktifi) ..... koyu morumsu-kırmızı oluncaya kadar
- 13-yıkama (akar su) ..... 5 dk
- 14-zıt boyama (Mayer Hematoksilen) .... 3 dk
- 15-yıkama (akar su) ..... mavileşene kadar
- 16-saf su ile çalkalama
- 17-dehidrasyon (%30, 50, %70, 96, 100 alkol) 1, 2, 5, 7, 10 dk
- 18-şeffaflaştırma (ksilol) ..... 15 dk (2 defa)
- 19-preparatı kapama (balsam)

*Lillie'nin soğuk Schiff reaktifinin hazırlanması:*

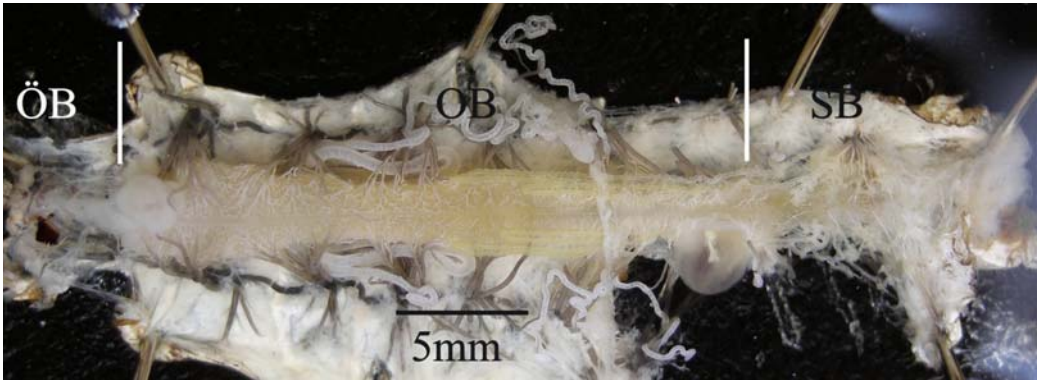
- bazik fuksin ..... 1gr
- sodyum metabisülfid ... 1.8gr
- saf su ..... 100ml
- HCl ..... 1ml (2 saat veya gece boyunca serin ve karanlık bir ortamda karıştırılır)
- Aktif kömür ..... 50gr

Karıştırılarak filtre edilir ve tekrar saf su ile 100ml'ye tamamlanır.

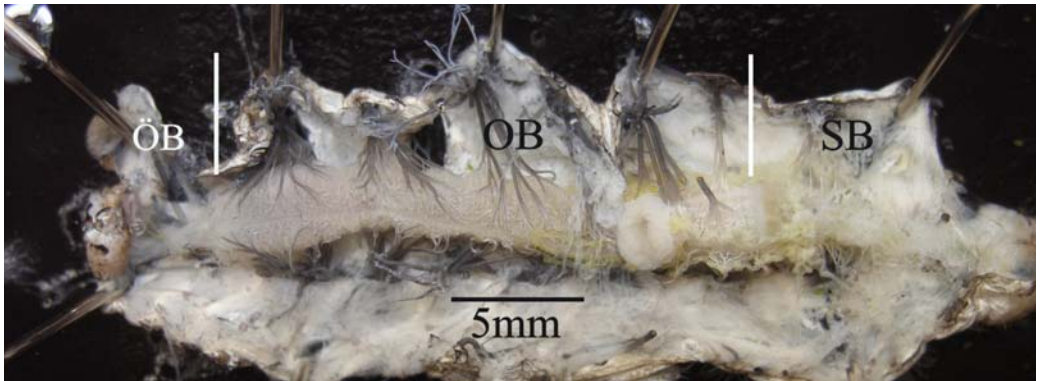
### 3.BULGULAR

Çalışma materyali olan *Bombyx mori*'de sindirim borusu iki ucu açık tüp şeklinde ve fonksiyonel olarak ön barsak (ÖB), orta barsak(OB) ve son barsak (SB) gibi bölgelere ayrılmaktadır (Şekil 3.1). Besin miktarına bağlı olarak meydana gelebilecek histo-morfolojik değişikliklerin gösterilebilmesi için **kontrol grubu, 1. grup** (10gr besin) ve **2. grup** (20gr besin) larvalarda, son evre olan 5. instarın ilk günü (0. gün) ile sonuncu gününde sindirim borusunun morfolojisi total olarak dikkate alınmış ve uzunluklarında bir fark olduğu saptanmıştır. 5.instar 0. gün larvaların barsak uzunluğunun **kontrol grubunda** 38mm, **2. grupta** 31mm ve **1. grupta** 30mm, 5. instar sonuncu günde ise **kontrol grubunda** 66mm, **2. grupta** 60mm ve **1. grupta** da 55mm olduğu görülmüştür (Şekil 3.1-2-3-4-5-6). İstatistiki olarak One away Anova testine göre 5.instar 0. gün ile 5. instar sonuncu günde  $p < 0$  değerine ulaşılmıştır. “p” değerinin 0'dan küçük olması, gruplar arasında sindirim borusu boyunun önemli sayılabilecek farklılık gösterdiğine işaret etmektedir.

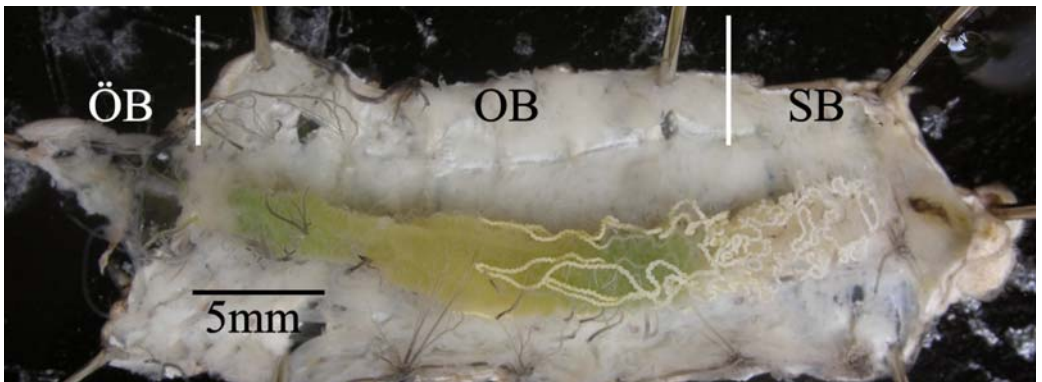
Sindirim borusunun fonksiyonel bölgeleri olan ön barsak ve son barsak ağırlıklı olarak kitinöz bir yapıya sahip olduklarından histolojik değerlendirmeye alınmamıştır, hücresel düzeni ile gruplar arasında sitolojik farklılıkları ortaya koyabilecek yapıda olduğundan esas olarak orta barsak ele alınmıştır.



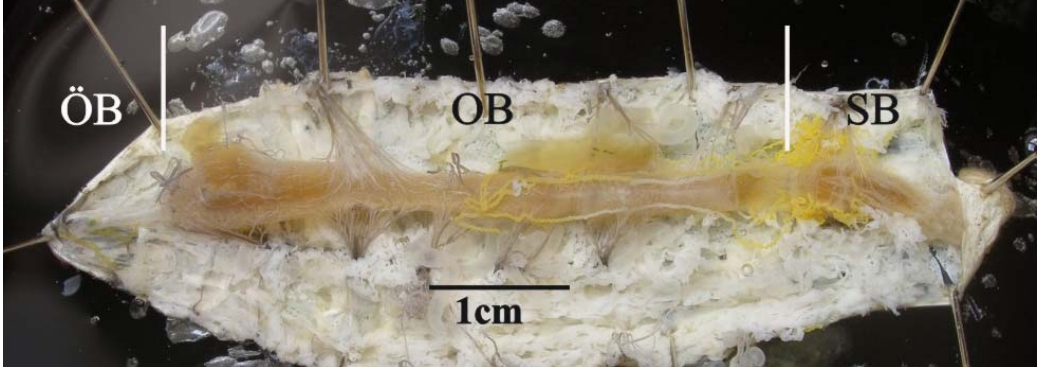
Şekil 3.1. Kontrol grubu 5. instar 0.gün sindirim borusu morfolojisi



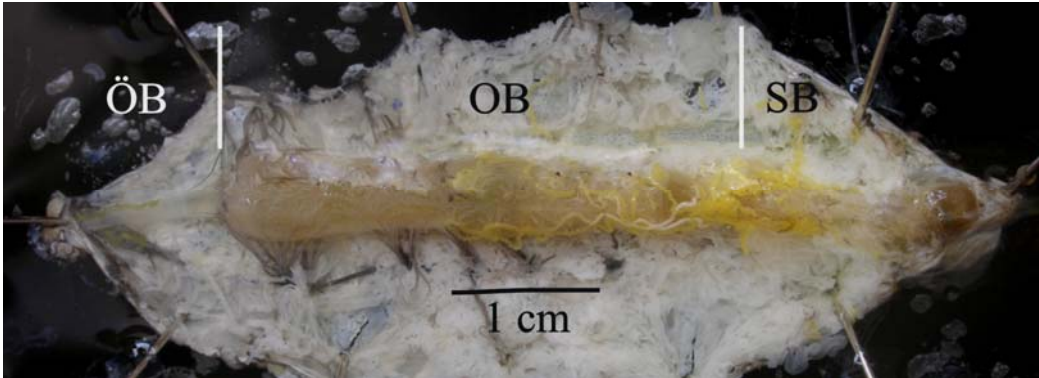
Şekil 3.2. 2. grup 5. instar 0. gün sindirim borusu morfolojisi



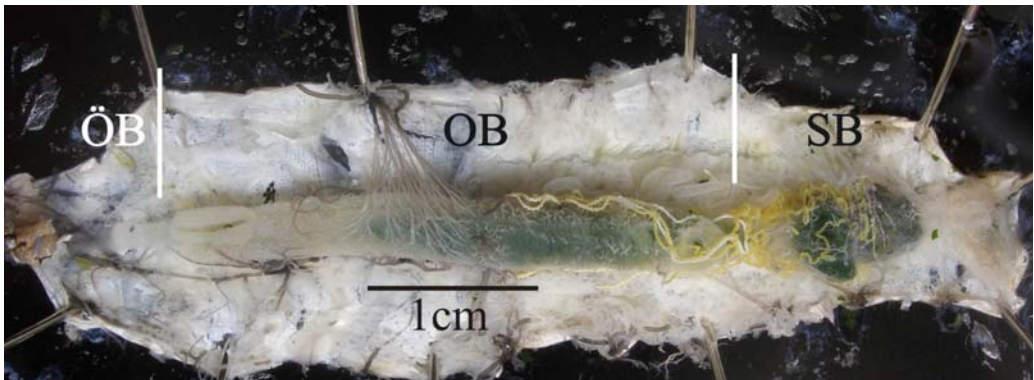
Şekil 3.3. 1. grup 5. instar 0. gün sindirim borusu morfolojisi



Şekil 3.4. Kontrol grubu 5. instar sonuncu gün sindirim borusu morfolojisi



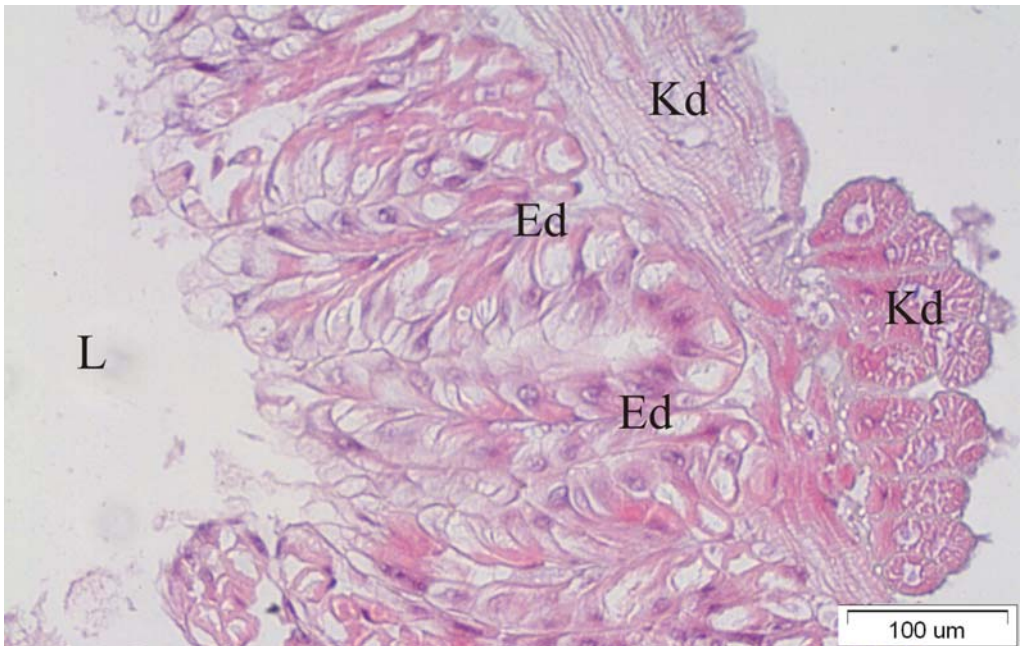
Şekil 3.5. 2. grup 5. instar sonuncu gün sindirim borusu morfolojisi



Şekil 3.6. 1. grup 5. instar sonuncu gün sindirim borusu morfolojisi

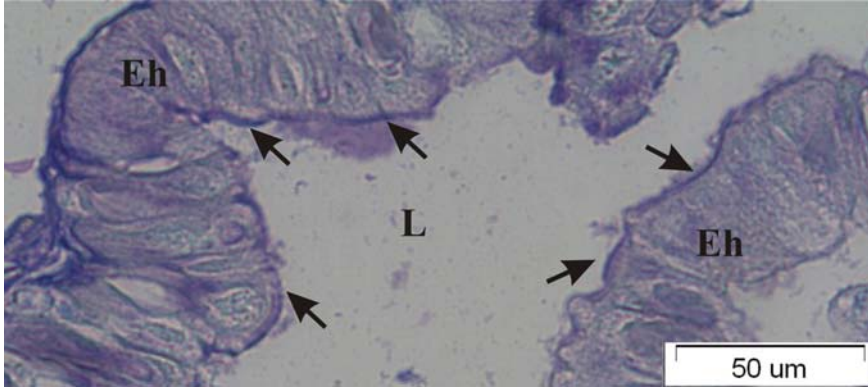


*Bombyx mori*'de orta barsak tek katlı epitel, epiteli saran bağ doku ile borunun kasılmasını sağlayan kas tabakası ve bu tabakalar arasında farklı yönlere uzanarak dağılım gösteren trake-trakeollerden meydana gelmektedir. Barsak içi fonksiyonel alanın genişletilmesi ile ilişkili olarak, lümeneye doğru villüs adı verilen çıkıntılar oluşturulmuş olup sözü edilen doku düzenlenişleri villüslerde de aynı şekilde devam etmektedir (Şekil 3.7).



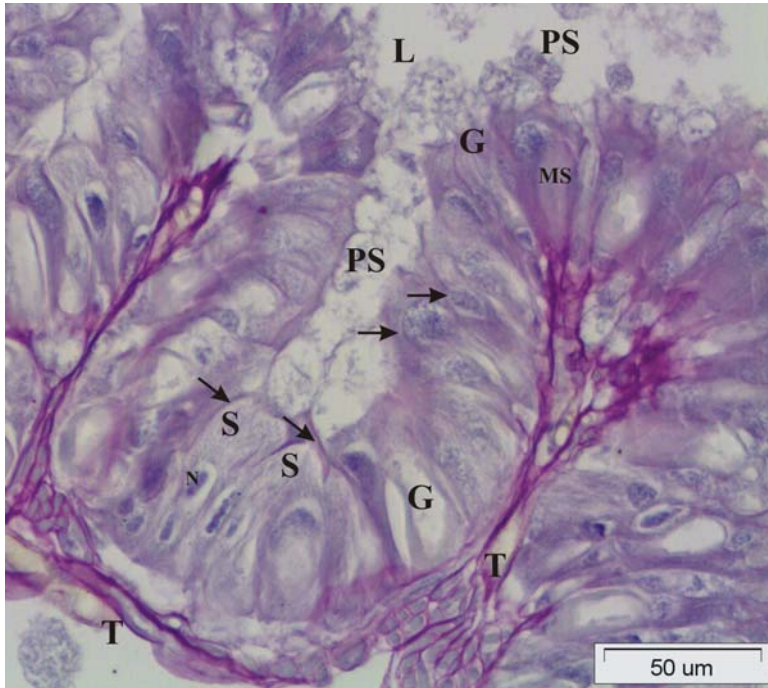
Şekil 3.7. Sindirim borusu genel tabakaları (H&E)

Barsaktaki tek katlı epitel tabaka, bazal membran üzerine oturmuş silindirik hücreler ile aralarında yer alan goblet hücrelerinden oluşmaktadır. Silindirik hücreler, homojen sitoplazmalarında apikale yakın yerleşimli oval nukleus ve apikal bölgelerinde emilim yüzeyini artıracak olan mikrovillüsler taşımaktadırlar. Bazı böcekler için tipik ve koruyucu özellikli olduğu ifade edilen peritrofik membrana da bu ışık mikroskobu çalışmasında hücrelerin lümeneye bakan kısımlarında yer yer mikrovillüslerle birlikte rastlanmıştır (Şekil 3.8)

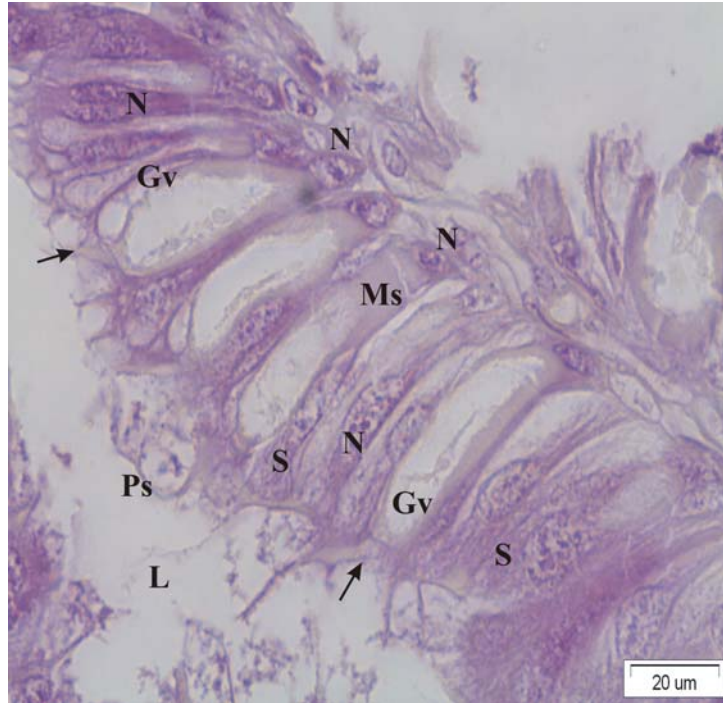


Şekil 3.8. Epitel hücrelerin apikalinde peritrofik membran (↔ peritrofik membran) (PAF)

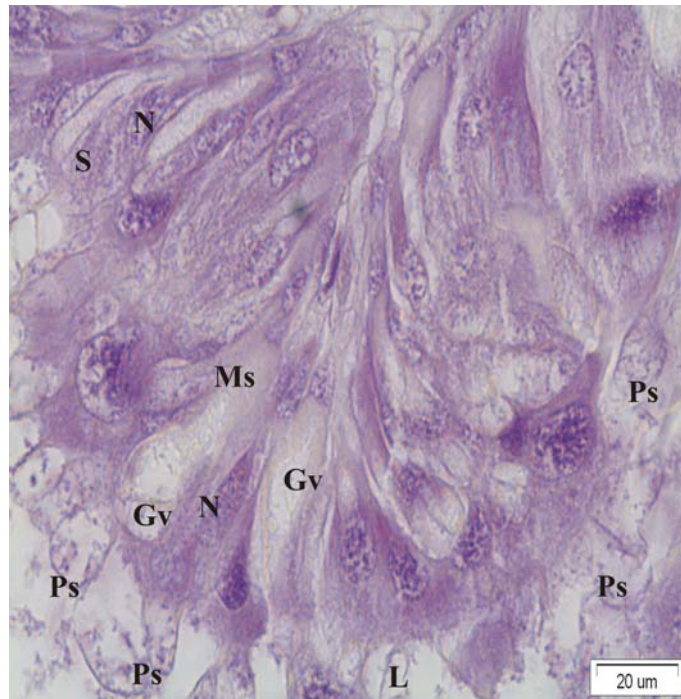
PAS ile boyalı preparatlarda silindirik hücrelerin sitoplazmalarında granüller halinde proteinik salgı maddesi bulunmakta ve bu salgının apikalden lümeneye apokrin yolla verildiği görülmektedir. Mukus sentezleyip salgılayan goblet hücreleri ise geniş salgı alanlarına sahiptir ve sitoplazma ile nukleusları bazale itilmiştir. Silindirik ve goblet hücrelerinin yükseklikleri 50-65μm arasında değişmektedir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Kontrol grubu 5. instar 0. gün villus yapısı (↔ silindirik hücre) (PAS)



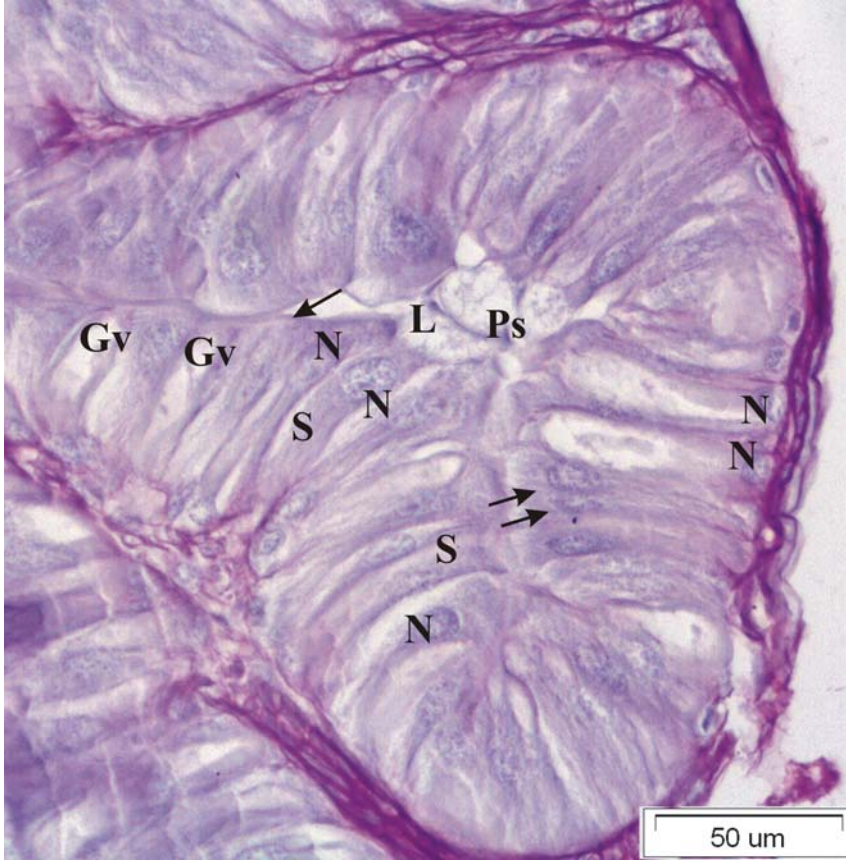
Şekil 3.10. Kontrol grubu 5. instar 0. gün orta barsak hücreleri (→ goblet hücre açıklığı) (H&E)



Şekil 3.11. Kontrol grubu 5. instar 0. gün silindirik ve goblet hücrelerinin salgıları (H&E)

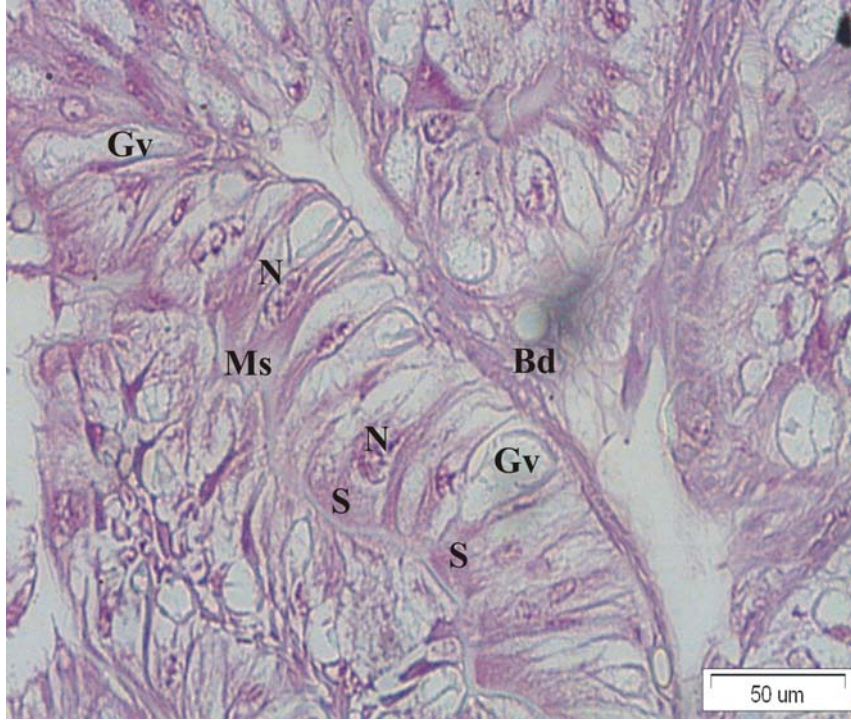


**Kontrol grubunun 5. instar 0. gününde** silindirik hücrelerin şekli ve sınırları belirgin olup aralarında eşit sayılabilecek yerleşimde goblet hücreleri yer almaktadır. Vakuollerinde mukus salgısı içeren goblet hücrelerinin, salgılarını apikalden lümeneye verdikleri görülmektedirler (Şekil 3.9-10-11-12). Orta barsaktaki hücrelerin boyutları genelde verildiği şekildedir.

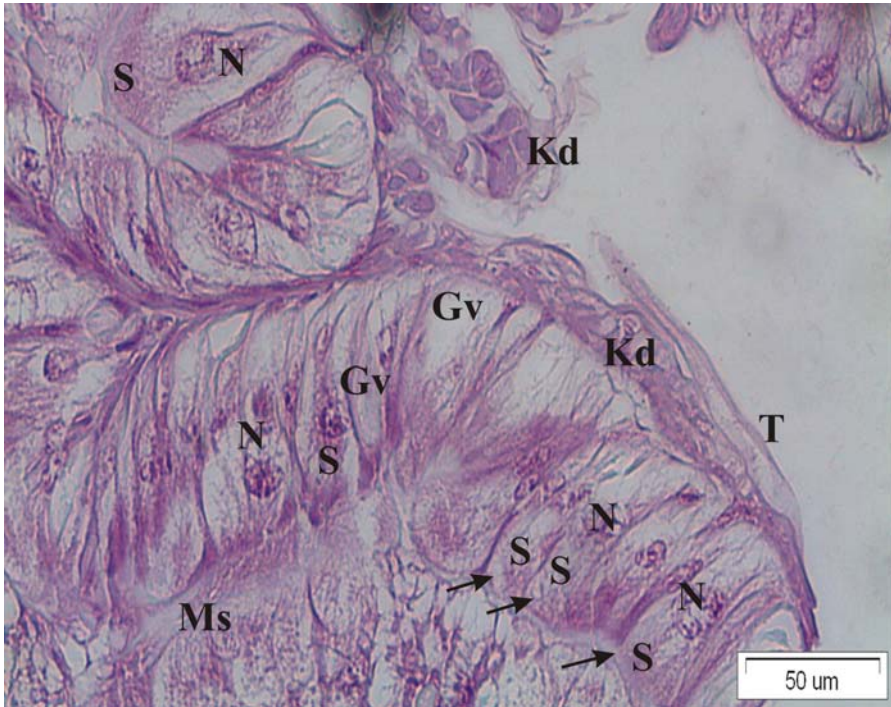


Şekil 3.12. Kontrol grubu 5. instar 0. gün orta barsak hücreleri (→ silindirik hücreler) (PAS)

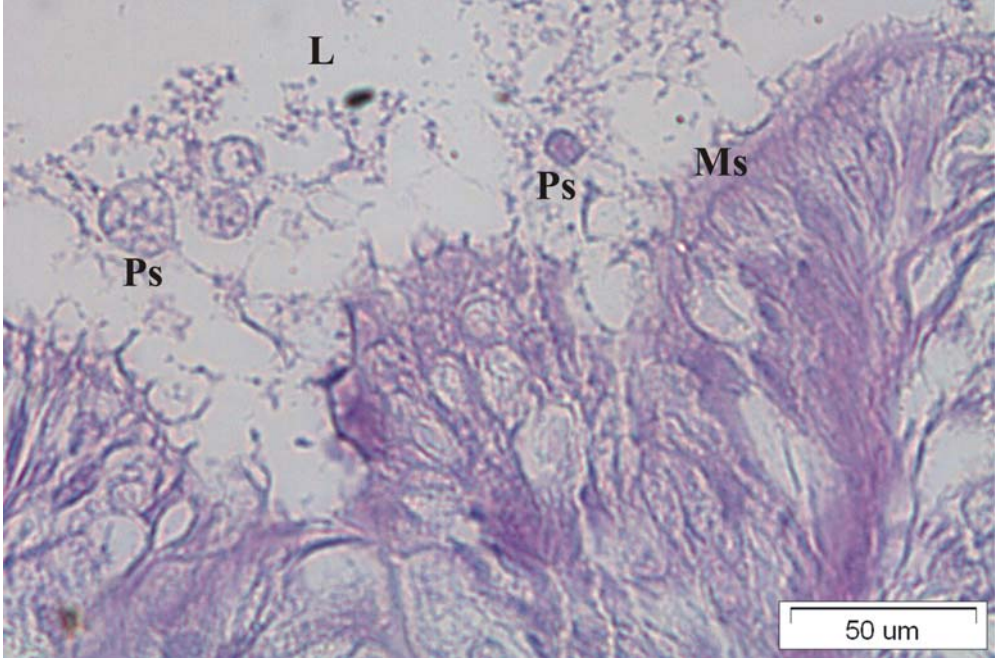
**2. grup 5. instar 0. günde** barsak hücreleri, kontrol grubuna göre daha az yoğunluklu sitoplazmaya sahip ve daha açık renkte boyanmış olan silindirik hücrelerin apikallerinde proteinik salgı da daha az miktarda gözlenmiştir. Goblet hücreleri ve silindirik hücreler eşit dağılımlı olup kontrol grubuna göre 2. grupta salgının lümeneye verilmiş görüntüleri daha az sayıda saptanmıştır. Hücrelerin boyutları genelde verildiği şekildedir (Şekil 3.13-14-15).



Şekil 3.13. 2. grup 5. instar 0. gün hücrelerinin genel görünüşü (H&E)



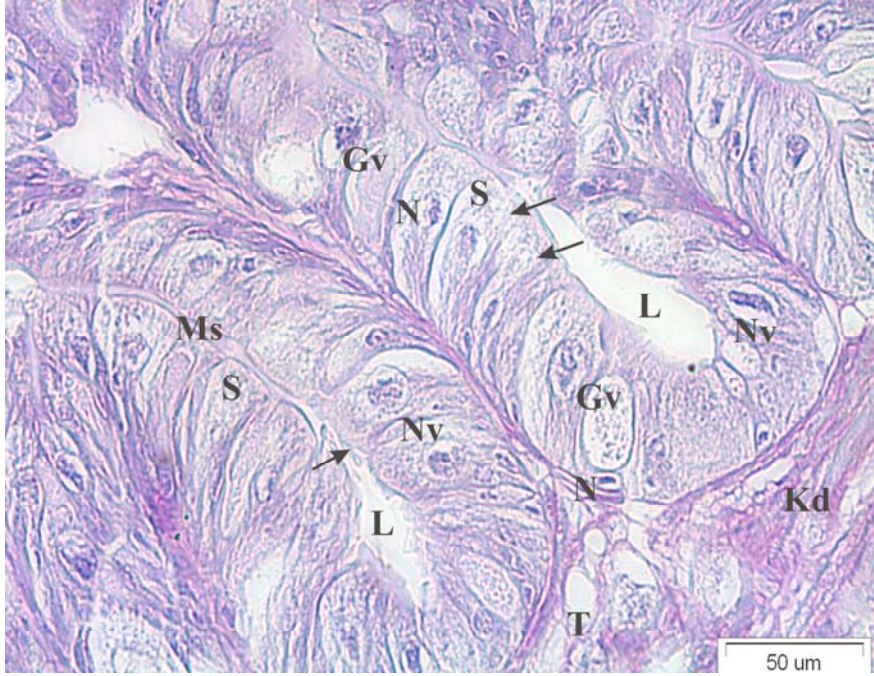
Şekil 3.14. 2. grup 5. instar 0. gün silindirik ve goblet hücreleri (→ silindirik hücreler) (H&E)



Şekil 3.15. 2. grup 5. instar 0. gün lümende proteinik salgı (PAS)

**1. grup 5. instar 0. günde** silindirik hücre sitoplazmaları homojen bir görünüşe sahiptir ancak kontrol ve 2. grubun örneklerine göre hücreler daha soluk görülmektedir. Hücrelerin nukleuslarında vakuolleşmeler yanında nukleus materyalinin belirgin yoğunlaşması ayırt edilmektedir. Silindirik hücreler tarafından lümeneye verilen proteinik salgı içeren vakuollerin sayısında azalma gözlenmiştir. Goblet hücrelerinin 2-3 silindirik hücrede bir yerleşmiş oldukları ve lümeneye daha az miktarda mukusun bulunduğu görülmektedir. Orta barsaktaki hücrelerin boyutları genelde verildiği şekildedir (Şekil 3.16-17-18).

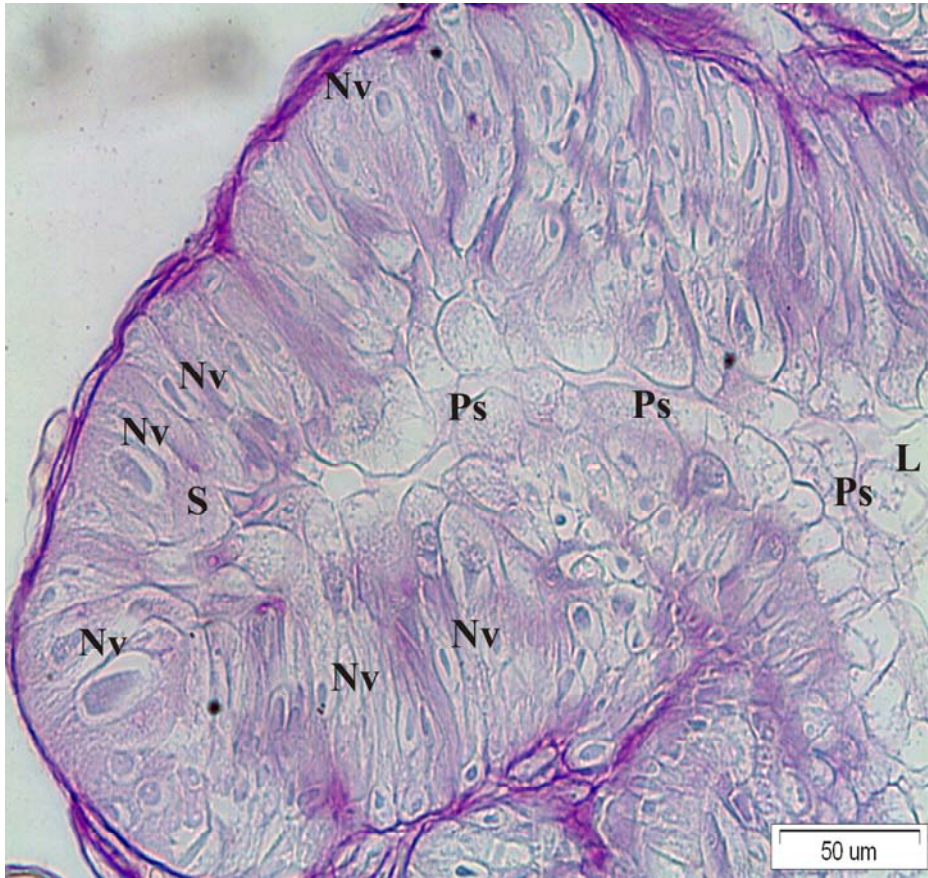




Şekil 3.16. 1. grup 5.instar 0. gün silindirik ve goblet hücreleri (→ silindirik hücreler) (PAS)



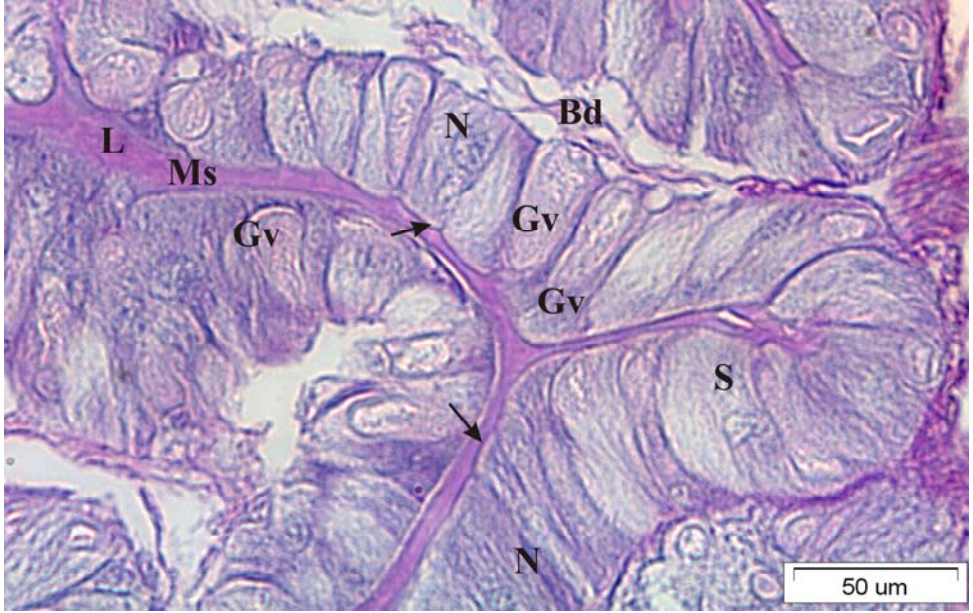
Şekil 3.17. 1. grup 5.instar 0. gün silindirik ve goblet hücreleri (→ silindirik hücreler) (PAS)



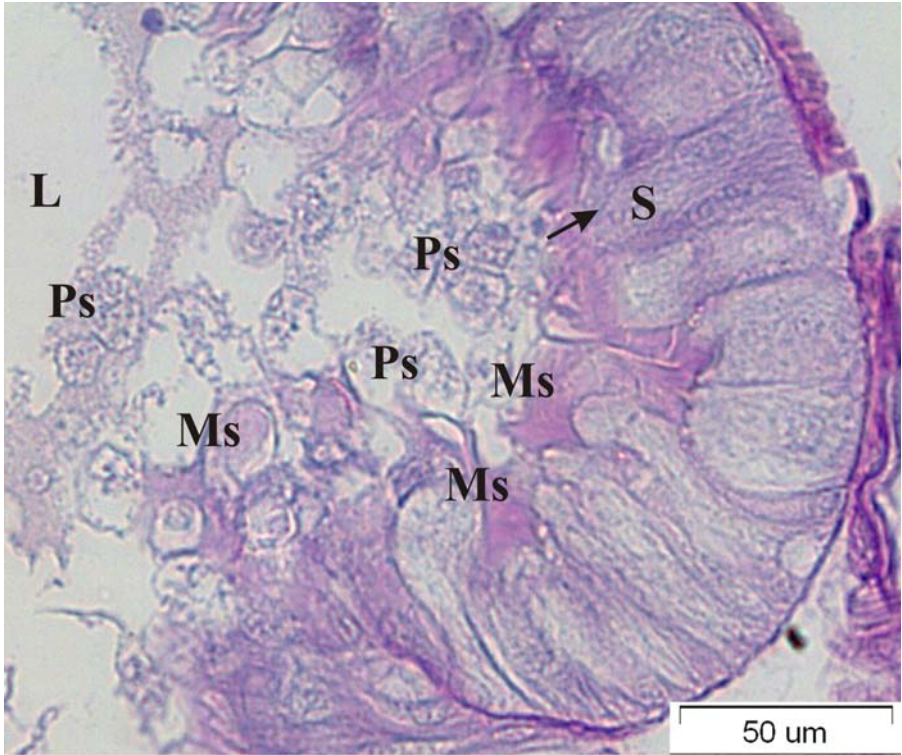
Şekil 3.18. 1. grup 5.instar 0. gün lümene verilen proteinik salgı (PAS)

**5. instar sonuncu günde kontrol grubunda** silindirik hücrelerin sınırları belirgin, sitoplazma ve nukleus materyali homojen şekilde görülmektedir. Goblet hücrelerinin ise daha aktif ve lümene yoğun bir mukus salgısı vermekte oldukları ayırt edilmektedir. Lümene proteinik salgı 5. instar 0. günde görülen salgı miktarı kadardır. Silindirik ve goblet hücrelerinin boyutları genelde verildiği şekildedir. Goblet hücreleri silindirik hücreler arasında eşit dağılımlıdır. (Şekil 3.19-20-21).

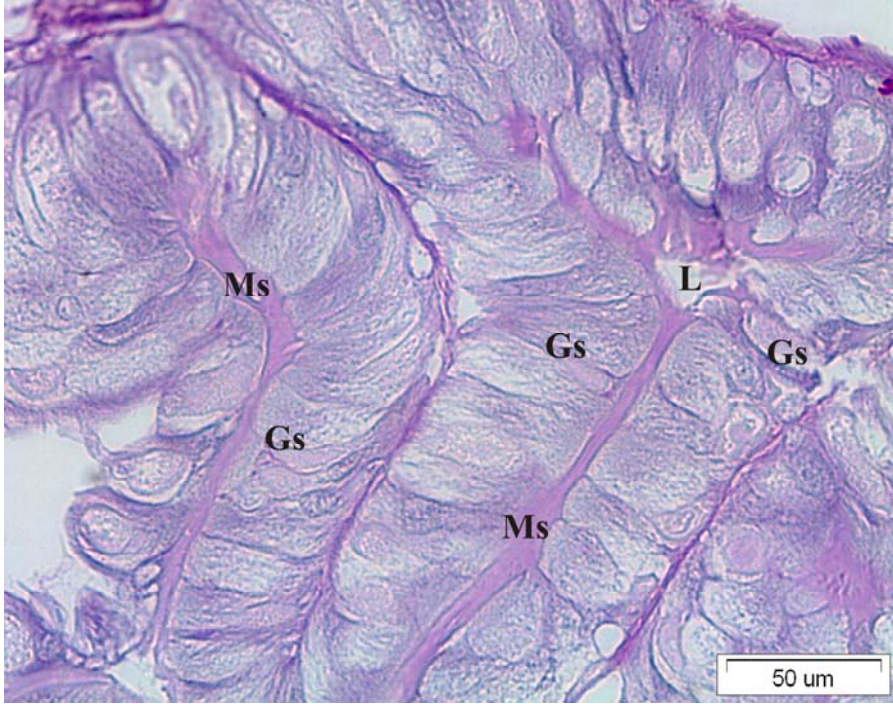




Şekil 3.19. Kontrol grubu 5. instar sonuncu gün orta barsak hücreleri (→ silindirik hücre) (PAS)



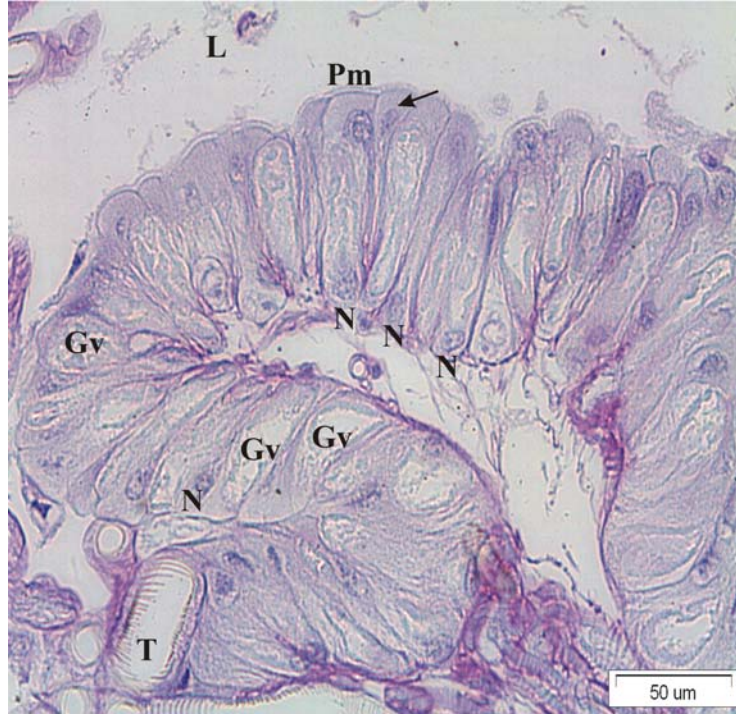
Şekil 3.20. Kontrol grubu 5. instar sonuncu günde lümeneye verilen salgılar (→ silindirik hücre) (PAS)



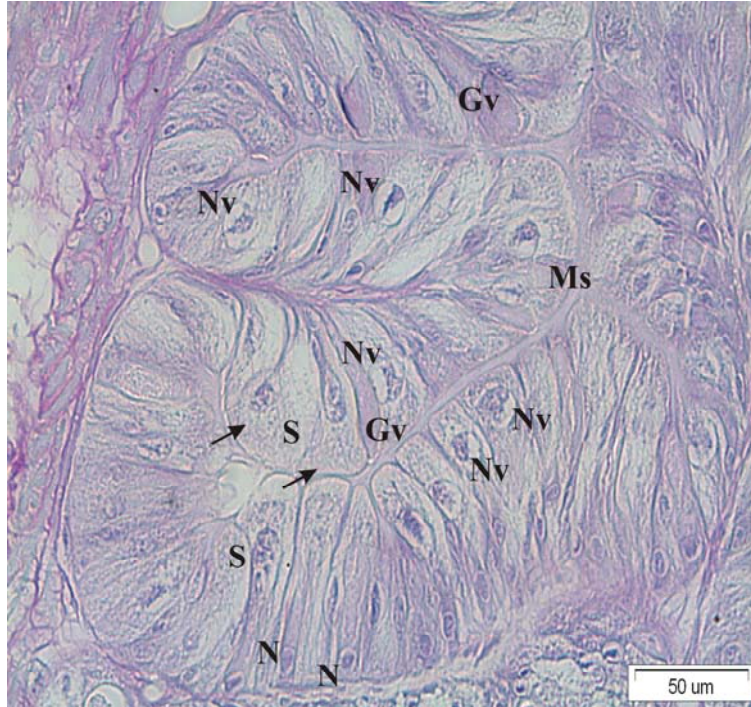
Şekil 3.21. Kontrol grubu 5. instar sonuncu günde orta barsak hücreleri (PAS)

Kontrol grubuna göre **2. grup 5. instar sonuncu günde** silindirik hücrelerin şekilleri yer yer net olarak ayırt edilememekte, nukleus içinde vakouleşmeler gözlenmektedir. Ayrıca kontrollere göre proteinik ve mukus salgılarının miktarlarında azalma olduğu, hatta mukus salgısının çoğu kesitte hemen hemen hiç görülmediği saptanmıştır. Hücre yükseklikleri genelde verildiği şekildedir. Goblet hücreleri silindirik hücreleri arasında eşit dağılımlı olarak yer almaktadır (Şekil 3.22-23-24-25).



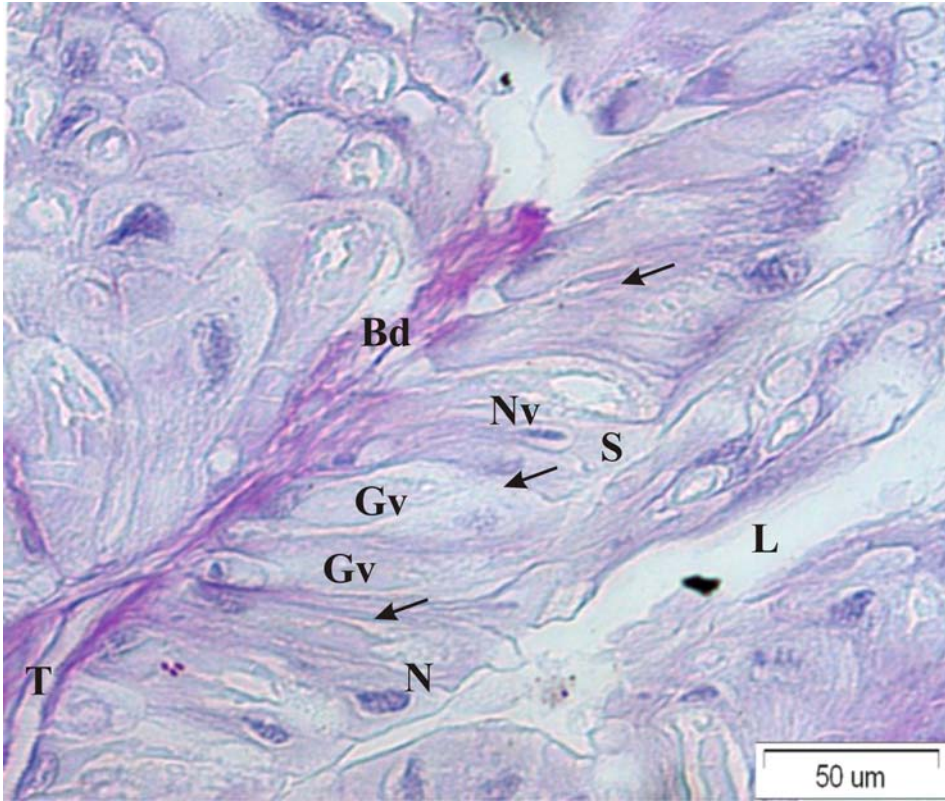


Şekil 3.22. 2. grup 5. instar sonuncu gün goblet ve silindirik hücreler (→ silindirik hücre) (PAS)

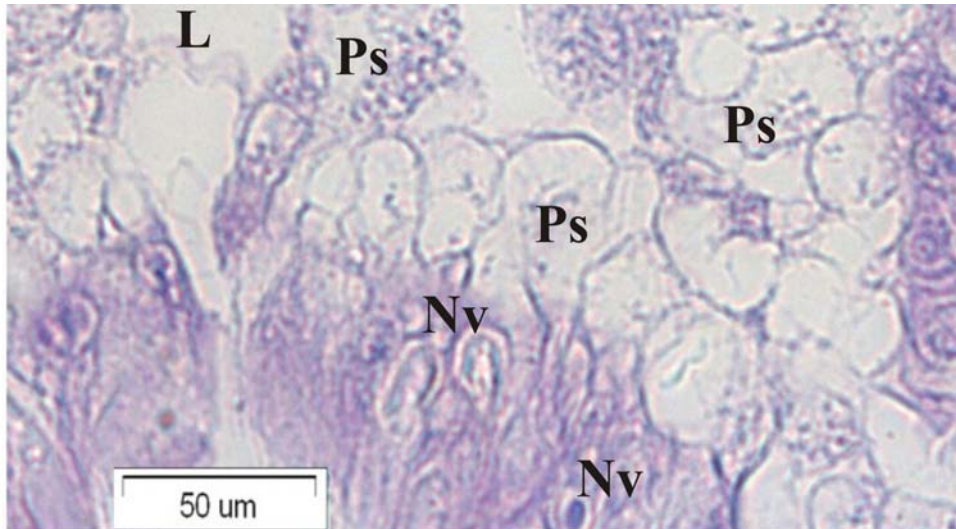


Şekil 3.23. 2. grup 5. instar sonuncu gün goblet ve silindirik hücreler (→ silindirik hücre) (PAS)





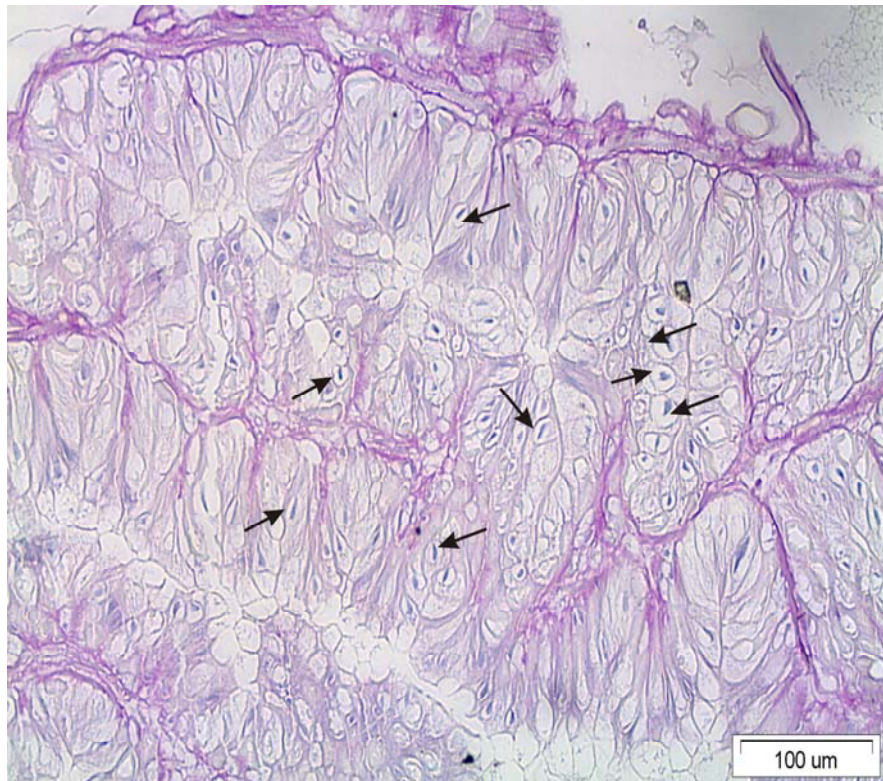
Şekil 3.24. 2. grup 5. instar sonuncu gün orta barsak hücreleri ( → hücre sınırları) (PAS)



Şekil 3.25. 2. grup 5. instar sonuncu gün lümeneye verilen proteinik salgı (PAS)

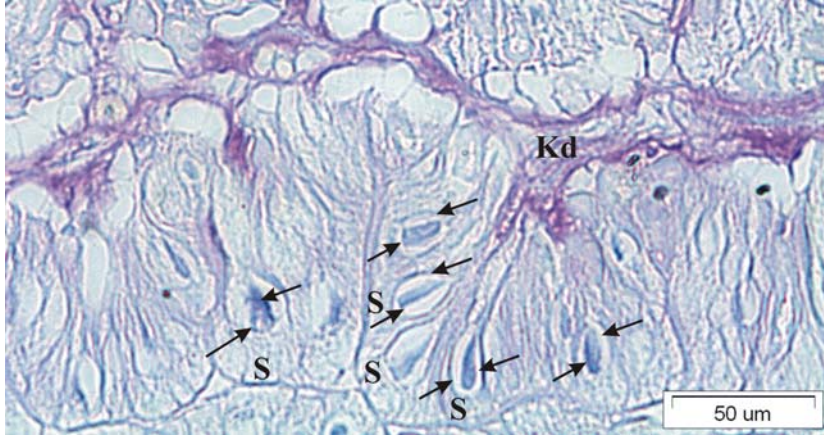
**1. grup 5. instar sonuncu günde** silindirik hücreler şekillerini kaybetmişler, hücre sitoplazmaları soluk bir şekilde boyanmışlar ve nuklear materyalin bir bölgeye toplandığı nukleuslarında vakuolleşmeler, 2. grubtan çok daha belirgin olarak artmıştır.

Lümeneye verilen mukus ve proteinik salgının az miktarda olduğu açık renkte boyanmadan anlaşılmakta ve buna bağlı olarak hücrelerin aktivitelerinin daha az olduğu düşünülmektedir. Silindirik ve goblet hücrelerinin boyları genelde verildiği gibidir. Goblet hücreleri 2-3 silindirik hücrede bir olmak üzere yer almaktadırlar (Şekil 3.26-27-28-29).

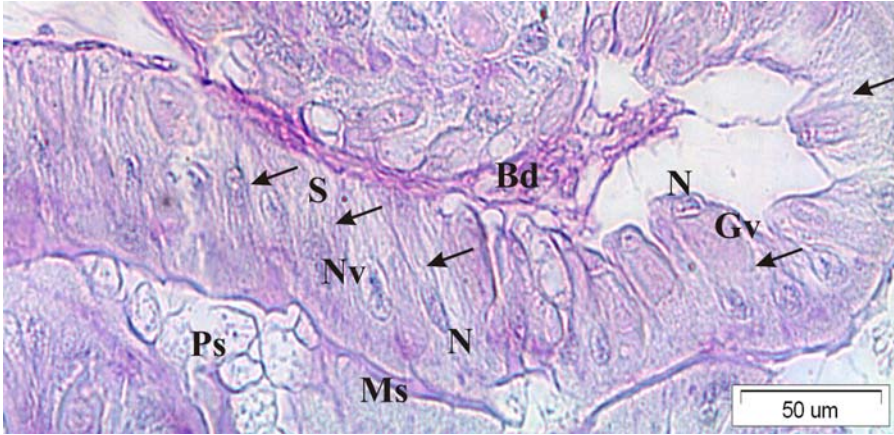


Şekil 3.26. 1. grup 5. instar sonuncu gün orta barsak hücreleri (→ nukleus vakuolleşmesi) (PAS)

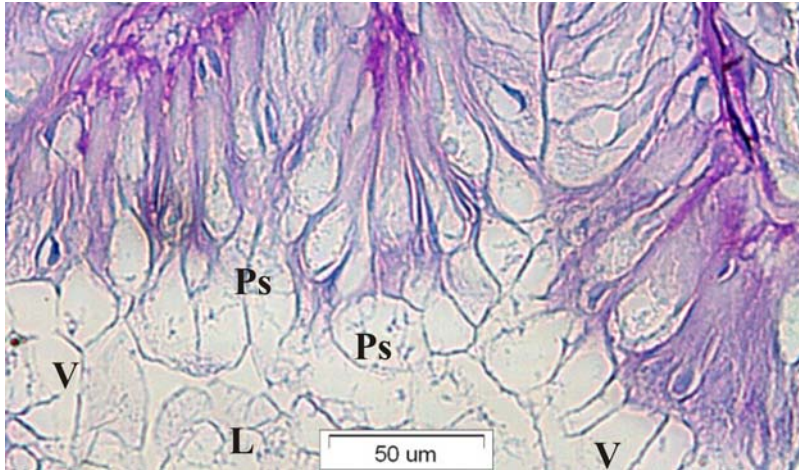




Şekil 3.27. 1. grup 5. instar sonuncu gün orta barsak hücreleri (→ nukleus vakuolleşmesi) (PAS)



Şekil 3.28. 1. grup 5. instar son gün sınırları kaybolmuş hücreler (→ hücre sınırları) (PAS)



Şekil 3.29. 1. grup 5. instar son gün lümeneye verilen proteinik salgı (PAS)

#### 4.TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, *Bombyx mori* 5. instar larvalarında normal miktarda besin ile beslenen kontrol grubuna göre besin azlığına maruz bırakılan grupların sindirim borusu histo-morfolojisinde ortaya çıkabilecek yapısal değişimler, daha önce yapılan birçok çalışmadan da yararlanılarak ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Lepidopterler ile çalışan bir çok araştırmacı larvalarda besin azlığına bağlı olarak vücut büyüklüğünün normalin altında olduğuna işaret etmişlerdir (Chapman, 1969; Nijhout, 1975; Nijhout ve Williams, 1974a,b; Nijhout ve Gurnet, 1998; Stern ve Elmen, 1999; Day ve Lawrence, 2000; D'amico ve ark., 2001; Britton ve ark., 2002; Ikeya ve ark., 2002).

Bu tez çalışmasında ise besin miktarına bağlı olarak 5. instar larvalarının sindirim borularının boylarında farklılıkların olduğu görülmektedir. Ayrıca gruplar arasında sindirim borusu boyları 5. instar 0. günde ve sonuncu günde karşılaştırıldığında, kontrol grubunda 2. ve 1. gruba göre daha uzun olduğu ayırt edilmektedir.

Böceklerde sindirim borusunun ağızla başlayan ve anüsle son bulan tüp şeklinde bir yapı olduğu ayrıca fonksiyonel olarak ön, orta ve son barsak olarak üç ana bölüme ayrıldığı bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Chapman, 1969; Judy ve Gilbert, 1970; Mathur, 1973; Dow, 1996; Gerard, 2002; Nation, 2002; Uwo ve ark., 2002; Levy ve ark., 2004). *Bombyx mori* ile yapılan bu çalışmada da sindirim borusunun genel şekli dikkate alınmıştır.

Orta barsağın histolojik yapınının bir çok araştırmacının (Chapman, 1969; Judy ve Gilbert, 1970; Matur, 1973; Mall, 1980; Sadrud-Din ve ark., 1994-1996; Dow, 1996; Hakim ve ark., 2001; Gerard, 2002; Nation, 2002; Cermenati ve ark., 2007) işaret ettiği gibi *Bombyx mori* 'de de içten dışa epitel doku, bağ doku, kasılmayı sağlayan kas tabakası ile trakelerden oluşmaktadır.

Bu çalışmada da sindirim borusundaki tek katlı epiteli bazal membran üzerine oturmuş, silindirik ve goblet hücrelerinin oluşturduğu görülmektedir.

Ancak daha önce yapılan bazı çalışmalarda Lepidopterlerde orta barsakta silindirik, goblet, endokrin ve rejeneratif (stem cells) hücrelere rastlanıldığı bildirilmektedir. Cermenati ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada *Bombyx mori* larvalarının orta barsağında üçüncü bir tip olan rejeneratif hücrelerden söz etmektedirler. Bu araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda 4. instar, 4. instar uyku ve 5. instar larvalarını kullanmışlar, 4. instar uykudaki larvaların orta barsağında rejeneratif hücrelerin bulunduğunu belirtmişlerdir. 5. instarda, beslenen larvalarda ise bu hücre tipinin bulunmadığına işaret etmişlerdir. *Hyalophora cecropia* ile çalışan Anderson ve Hervey (1966) ile Judy ve Gilbert (1970) de uyuyan larvaların barsak epitelinde ayrıca üçüncü tip olan rejeneratif hücrelerinin olduğunu bildirmişlerdir. *Hofmannophila pseudospretella* (Gerard 2002), *Marasmia trapezalis* (Mall, 1980) ve *Prodenia litura* (Matur, 1973)'da orta barsakta silindirik, goblet ve rejeneratif olmak üzere üç tip hücrenin yer aldığı gösterilmiştir. *Galleria mellonella*'da bu üç hücre dışında nörosekresyon hücrelerine rastlanmıştır (Uwo ve ark., 2002). Baldwin (1993), Sadrud-Din ve ark. (1994-1996) ile Hakim ve ark. (2001) tarafından *Manduca sexta*'da yapılan çalışmalarda da orta barsakta silindirik, goblet ve rejeneratif hücrelerin bulunduğu işaret edilmiştir. Levy ve ark. (2004) *Anticarsia gemmatalis*'in orta barsak epitelinde silindirik, goblet, rejeneratif ve endokrin olmak üzere 4 farklı hücreden söz etmektedirler.

*Bombyx mori* ile yapılan bu çalışmada ise araştırmacıların belirttiği dört hücre tipinden sadece ikisi olan silindirik ve goblet hücreleri tanımlanabilmiştir. Çalışma materyali 5. instar larvaları olduğu için Cermenati ve ark. çalışması ile benzerlik göstermiş olup ve rejeneratif hücrelere rastlanmadığı düşünülmektedir.

*Bombyx mori*'de silindirik hücreler homojen sitoplazma apikale yakın oval nukleusa ve apikallerinde mikrovillüslara sahiptir. Bu ışık mikroskobu

çalışması, hücrelerin lümene bakan kısımlarında mikrovilluslarla birlikte peritrofik membranın yer aldığı izlenimini vermektedir. Lepidopterlerle çalışan araştırmacılar da orta barsakta epitel hücrelerini koruyan ve besinlerin iletilmesini sağlayan peritrofik membran varlığından söz etmektedirler. (Anderson ve Harvey, 1966; Chapman, 1969; Judy ve Gilbert, 1970; Mathur, 1973; Flower, 1976; Mall, 1980; Baldwin, 1993; Sadrud-Din ve ark., 1994-1996; Dow, 1996; Lee ve ark., 1998; Hakim ve ark., 2001; Gerard, 2002; Nation, 2002; Uwo ve ark., 2002; Levy ve ark., 2004; Cermenati ve ark., 2007). Bu yönüyle de çalışmamız daha önce yapılan birçok çalışma ile paralellik göstermektedir.

Silindirik hücrelerin sitoplazmalarında üretilen salgı, granüler halde bulunmakta ve apikalden lümene apokrin yolla verilmektedir. Anderson ve Hervey (1966) ile Judy ve Gilbert (1970) de *Hyalophora cecropia* larvalarının orta barsağında yaptıkları çalışmada silindirik hücreleri; apikale yakın oval nukleusları olan, apikallerinde mikrovilluslara ve homojen sitoplazmaya sahip hücreler olarak tanımlamışlardır. Bu hücrelerin salgılarını apokrin yolla lümene verdiklerini belirtmişlerdir. *Galleria mellonella* ile çalışan Uwo ve ark., (2002) silindirik hücreleri sınırları belirgin, granüllü sitoplazmalı ve merkezi oval şekilli nukleuslu olarak tanımlamışlardır. Baldwin (1993), Sadrud-Din ve ark. (1994-1996) ile Hakim ve ark. (2001) tarafından *Manduca sexta*'da yapılan çalışmalarda da orta barsaktaki silindirik hücrelerin merkezi nukleuslu oldukları, apikallerinde mikrovilluslar taşıdıkları belirtilmiştir. *Anticarsia gemmatalis*'in orta barsağında prizmatik şekilli bazofilik sitoplazmaya sahip silindirik hücrelerin apikallerinde mikrovilluslar ve salgı vakuollerinin olduğuna Levy ve ark. (2004) işaret etmişlerdir. Gerard (2002) 'ın *Hofmannophila pseudospretella* ile yaptığı çalışmada silindirik hücrelerin nukleuslarının hücrelerin boyunun 1/3'nü kapladığı ve merkeze yakın yerleşmiş konumda olduğu, nukleus apikalindeki sitoplazmanın granüller içerdiği ve hücrelerin mikrovillus

taşıdıkları belirtilmiştir. *Bombyx mori* ile yapılan bu çalışma hücresel düzenleniş ve salgı aktivitesi açısından genelde verilen bu bilgilerle uyum göstermektedir.

*Hyalophora cecropia* larvalarının orta barsağında goblet hücrelerinin bazal membran üzerine yerleşmiş olduğu apikallerinde ise mikrovillus taşıdıkları Anderson ve Hervey (1966) ile Judy ve Gilbert (1970) tarafından bildirilmiştir. Ayrıca bu araştırmacılar goblet hücrelerinin mukus salgılamak için özelleşmiş geniş vakuelleri ile, sitoplazma ve nukleuslarını bazale ittiklerine işaret etmişlerdir. Uwo ve ark., (2002) tarafından da *Galleria mellonella*'da goblet hücrelerinin apikallerinde mikrovilluslerin varlığından söz edilmektedir. *Manduca sexta* ile yapılan çalışmalarda araştırmacılar goblet hücrelerini armut şekilli hücreler olarak, nukleusları bazalde, merkezi boşlukları olan, apikallerinde ise goblet vakuollerinin dışarı atılacağı alana sahip hücreler olarak tanımlamışlardır (Baldwin, 1993; Sadrud-Din ve ark., 1994-1996; Hakim ve ark., 2001). Levy ve ark. (2004) *Anticarsia gemmatalis* ile yaptıkları çalışmalarında geniş bazal alanlı, asidofilik sitoplazmalı goblet hücrelerinin nukleusların da bazale yerleşmiş sahip olduklarını belirtmişlerdir. Gerard (2002) 'ın *Hofmannophila pseudospretella* ile yaptığı çalışmada goblet hücrelerini kadeh şeklinde diye tanımlamakta ve uzun boyunları ile orta barsağa açıldıklarını, oval nukleuslarının hücrelerin bazalinde yer aldıklarını göstermektedir.

Bu çalışmada da goblet hücreleri, merkezi geniş vakuollere sahip sitoplazma ve nukleusları bazalde olan hücreler olarak saptanmıştır. Mukus sentezleyip apikallerinden bu salgıyı lümene veren goblet hücrelerinin merkezi vakuollerinde günlere ve besin miktarına göre salgı gözlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda tanımlanan goblet hücreleri *Manduca sexta* dışındaki lepidopter larvalarındakilerle benzerlik gösterirken, *Manduca sexta*'da tanımlanan hücrelerle bire bir benzerlik göstermektedir.

*Bombyx mori* 'de besin miktarının sindirim borusu üzerinde meydana getirdiği farklılıklar olarak hücre sitoplazmalarında kontrol grubuna göre 1. ve 2. grubun daha az yoğun olduğu ve açık renkte boyandığı, hücre apikallerinde granüllü salgı miktarının daha az olduğu görülmüştür. 5. instarın son gününde 1. ve 2. grubun silindirik hücre sınırları belirginliklerini kaybetmeye başlamış, nukleuslarında vakuolleşmeler ayırt edilmiştir. Goblet ve silindirik hücrelerinin lümenine verdiği salgı vakuollerinin sayısında ve içeriklerinde azalmalar meydana gelmiştir.

*Hofmannophila pseudospretella* ile yapılan çalışmada aç bırakılan larvaların sindirim borusunda rejeneratif hücrelerin sayılarında artış, goblet hücrelerinin apikallerinde salgı içerikli vakuoller ve lümeninde boş sitoplazmik vakuoller bulunduğunu Gerard (2002) belirtmektedir.

Bu tez çalışmasında 5. instar larvaları ile çalışıldığından rejeneratif hücreler belirlenememiştir. Ancak 1. ve 2. grubun orta barsağında lümenine az miktarda salgı içeren sitoplazmik vakuollerin verilmiş olduğu gözlemine Gerard'ın yaptığı çalışma destekleyici olmaktadır.

Sonuç olarak holometabol gelişim gösteren *Bombyx mori* larvalarına verilen besin miktarı, larvaların sindirim borusu histo-morfolojisi üzerinde farklılıklara neden olmuştur. Besin, holometabol gelişim gösteren canlılarda büyüme ve belli bir olgunluğa erişebilmek için önemli bir parametre olmaktadır. Başta sindirim borusunun boyu olmak üzere, silindirik ve goblet hücrelerini içeren lümeni saran epitel dokuda besin miktarına bağlı olarak hücre bozunmaları ve aktivitelerinde düşüşler meydana gelmiştir. Hücrelerdeki bozunmaların detaylandırılıp açıklanabilmesi, elektron mikroskobu çalışmasıyla ve aktivite düşüklüklerinin ortaya konulabilmesi de biyokimyasal yöntem uygulanması ile daha net sonuçlara ulaşılmasını sağlayacaktır.



## KAYNAKLAR

- Anderson, E., Harvey, W., 1966**, Active transport by the cecropia midgut II. fine structure of the midgut epithelium, *The Journal of Cell Biology* 31:107-134.
- Ayuzawa, C., Sekido, I., Yamaka, K., Sakurai, U., Kurata, W., Yaginuma, Y., Tokoro, Y., 1972**, Handbook of silkworm Rearing. Agricultural Technique Manual 1. Fuji Publishing Co., LTD., Tokyo, Japan.
- Baldwin, K.M., Hakim, R.S., Stanton, G.B., 1993**, Cell-cell communication correlates with pattern formation in molting *Manduca* midgut epithelium, *Developmental dynamics* 197: 239-243.
- Britton, J.S., Edgar, B.A., 1998**, Environmental control of the cell cycle in *Drosophila*: nutrition activates mitotic and endoreplicative cells by distinct mechanisms, *Development* 125, 2149–2158.
- Cermenati, G., Corti, P., Caccia, S., Giordana, B., Casartelli, M., 2007**, A morphological and functional characterization of *Bombyx mori* larval midgut cells in culture, *Research Report ISJ 4*: 119-126.
- Chapman, R.F., 1969**, *The Insect Structure and Function*, The English Universities pres LTD.
- Day, S.J., Lawrence, P.A., 2000**, Measuring dimensions: the regulation of size and shape, *Development* 127, 2977-2987.
- D'Amico, L.J., Davidowitz, G., Nijhout, H.F., 2001**, The developmental and physiological basis of body size evolution in an insect, *Proc. R. Soc. Lond. Biol. Sci.* 268, 1589–1593.
- Dow, J.A.T., 1986**, *Insect Midgut Function*, *Advences in insect physiology* vol. 19: 188-290.
- Gerard P.J., 2002**, The digestive system of the keratin-feeding larvae of *Hofmannophila pseudospretella* (Lepidoptera: Oecophoridae), *New Zealand Journal of Zoology*, vol.29:15-22.
- Hakim, R.S., Baldwin, K.M., Loeb, M., 2001**, The role of stem cells in midgut growth and regeneration, *In vitro Cell. Dev. Biol.-Animal* 37: 338-342.

- Ikeya, T., Galic, M., Belawat, P., Nairz, K., Hafen, E., 2002.** Nutrient-dependent expression of insulin-like peptides from neuroendocrine cells in the CNS contributes to growth regulation in *Drosophila*, *Curr. Biol.* 12, 1293–1300.
- İpekböcekçiliği ve Dutçuluk, seminer notları,1985,** İpekböcekçiliği Araştırma Enstitüsü Yayınları No:82, Bursa.
- Judy, K.J., Gilbert, L.I., 1970,** Histology of the Alimentary Canal during the Metamorphosis of *Hyalophora cecropia* (L.), *J. Morph.*, v. 131, no. 3, pages 277-300.
- Levy, S.M., Falleiros, A.M.F., Gregoio, E.A., Arrebola, N. R. and Toledo, L. A., 2004,** The larval midgut of *Anticarsia gemmatalis* (HÜBNER) (Lepidoptera: Noctuidae): Light and electron microscopy studies of the epithelial cells, *Braz. J. Biol.*, 64: 633-638.
- Mall, S.B., 1980,** Histomorphology of the alimentary canal and associated glands of the mature larva of *Marasmia trapezalis* Guen. (Pyralidae: Lepidoptera), *Journal of Natural History*, 14:97-110.
- Mathur, L.M.L., 1973,** Histology of the alimentary canal of the mature larva of *Prodenia litura* Fabr. (Lepidoptera), *J. Nat. Hist.*, 7:653-664.
- Nation, J.L., 2002,** *Insect Physiology and Biochemistry*, CRC Press LLC, 496 pages
- Nijhout, H.F., Grunert, L.W., 2002,** Bombyxin is a growth factor for wing imaginal disks in Lepidoptera. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 99, 15446–15450.
- Nijhout, H.F., Williams, C.M., 1974 (a),** Control of moulting and metamorphosis in the tobacco hornworm, *Manduca sexta* (L.): growth of the last-instar larva and the decision to pupate. *J. Exp. Biol.* 61, 481–491.
- Nijhout, H.F., Williams, C.M., 1974 (b),** Control of moulting and metamorphosis in the tobacco hornworm, *Manduca Sexta* (L.): cessation of juvenile hormone secretion as a trigger for pupation. *J. Exp. Biol.* 61, 493–501.
- Öber, A., 2004,** *Zoolojide Laboratuar Tekniği*, Ege Üniversitesi Basımevi, Fen Fakültesi Yayınları No:185, Bornova-İzmir.

- Öber, A., Turgay İzzetoğlu, G., 2006,** Histoloji, Nobel Yayın Dağıtım, Nobel Yayın No:1025, Ankara.
- Parlak, O., 2001,** İpekböceği Biyolojisi yardımcı ders kitabı. Ege Üniversitesi Basımevi, Fen Fakültesi Yayınları No:171, Bornova-İzmir.
- Presnell, J.K., Schreibman, M.P., 1997,** Humason's Animal Tissue Techniques, Fifth Edition.
- Ryu, K. S., 1978,** İpekböceği bakım beslenme ve hastalıkları. İpekböcekçiliği Araştırma Enstitüsü Yayınları No:70.
- Sadrud-Din, S., Hakim, R.S., Loeb M.J., 1994,** Proliferation and differentiation of midgut epithelial cells from *Manduca sexta*, in vitro, *Invertebrate Reproduction and Development*, 26:3 197-204.
- Sadrud-Din, S., Loeb M.J., Hakim, R.S., 1996,** In vitro differentiation of isolated stem cells from the midgut of *Manduca sexta* larvae, *The Journal of Experimental Biology* 199: 319-325.
- Stern, D.L., Elmen, D.J., 1999,** The developmental basis for allometry in insect, *Development* 126, 1091-1101.
- Uwo, M.F., Ui-Tei, K., Park, P., Takeda, M., 2002,** Replacement of midgut epithelium in the greater wax moth, *Galleria mellonella*, during larval-pupal moult, *Cell Tissue Res.*, 308:319-331.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Meryem AKALİN  
 Doğum Yeri ve Yılı : Lefkoşa,17.12.1984  
 Medeni Hali : Evli  
 Yabancı Dili : İngilizce

### **Öğrenim Durumu**

**Lise** :2001, 20 Temmuz Fen Lisesi, Lefkoşa  
**Üniversite** :2001-2006, E.Ü. Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji  
 Anabilim Dalı, Bornova, İzmir  
**Yüksek Lisans**:2007-2008, E.Ü. Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji  
 Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

### **Katılan Bilimsel Toplantılar**

- ✓ XIX. Ulusal Biyoloji Kongresi  
 23-27 Haziran 2008, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, Türkiye

### **Verdiği Seminer**

- ✓ *Bombyx mori* (Lepidoptera; Bombycidae) de Besin Stresine Bağlı  
 Gelişim, Nisan, 2008