

***Agrotis segetum* (Den. and Schiff.) (Lepidoptera: Noctuidae) Prepupa ve Pupalarında Başkalaşım Sırasında Kan Hücrelerinde Görülen Bazı Morfolojik Değişimler**

Şerife BAYRAM¹Neşet KILINÇER¹Nihal ÖZDER²

Geliş Tarihi : 26.09.1997

Özet: *A. segetum* prepupa ve pupalarından hazırlanan seri preparatlarla başkalaşım süresince kan hücrelerindeki önemli morfolojik değişimler gözlenmiş ve gösterilmiştir. Prepupa dönemi süresince larva döneminde görülen prohemocyte, plasmacyte, adipohemocyte, spherulocyte, oenocytoid ve kristalli hücelere rastlanmıştır. Pupa dönemi süresince ise sadece prohemocyte, plasmacyte ve adipohemocyte'lere rastlanmıştır. Prepupa döneminin başından pupa döneminin sonuna doğru hücrelerde artan parçalanmalar olmuştur. Bununla birlikte bazı günlerde hemocyte'lerin tekrar yenilendikleri ve mitozla bölündükleri görülmüştür. Ayrıca prepupa ve pupa döneminde hemolimf içerisinde parçalanmış hücreler arasında fazla miktarda kristallere de rastlanmıştır.

Gerek prepupa gerekse pupa döneminde yapılan incelemelerde başkalaşım sırasında plasmacyte'lerin aktif olarak rol oynadıkları görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Agrotis segetum*, başkalaşım, kan hücreleri.

Some Morphological Changes Observed in the Blood Cells of Prepupa and Pupa During the Course of Metamorphosis of *Agrotis segetum* (Den. and Schiff.) (Lepidoptera: Noctuidae)

Abstract: Important morphological changes in the blood cells of prepupa and pupa of *A. segetum* were observed during the course of metamorphosis from the periodic slide preparations. Prohemocytes, plasmacytes, adipohemocytes, spherulocytes, oenocytoids and crystal cells were observed during prepupal stage as well as larval stage. During pupal stage only prohemocytes, plasmacytes and adipohemocytes were observed. An increase in breakage of cells happened from the beginning of prepupal towards pupal stage. On the other hand, sometimes regeneration and mitosis division in hemocytes was also observed. Moreover, during prepupal and pupal stages, large quantity of crystals was also found among the broken cells in hemolymph.

During both of the prepupal and pupal stages plasmacytes were found playing an active role in the course of metamorphosis.

Key Words: *Agrotis segetum*, metamorphosis, haemocytes.

Giriş

Bazı böcekler, larva evresinden ergin evresine geçebilmek için bir takım değişikliklere uğrarlar; buna Başkalaşım veya Metamorphosis adı verilir (Kansu, 1994). Metamorfoz sırasında ergine ait taslaklar geliştikçe larvaya özgü organların aynı ölçüde yıkılması gerekir. Bu yıkılma "Hiztoliz, Otoliz, Liyositoz veya Fagositoz" la olur. Otolizde değişik nedenlerle larval hücreler çözülmeye başlar. Liyositozda hemocyte' ler tarafından çıkarılan bazı fermentler aracılığıyla larval hücreler dıştan sindirilir. Fagositozda bazı hücreler doku hücrelerini fagosite ederek ortadan kaldırırlar. Histoliz ise larvadaki dokuların ya da hücrelerin her ne suretle olursa olsun yıkılmasına

denir. Çok kere hepsi birlikte işlev yaparlar (Demirsoy, 1992). Başkalaşım sırasında en önemli görevi kan hücrelerinin yaptığı bir çok araştırmacı tarafından bildirilmektedir (Rowley and Ratcliffe, 1981). Başkalaşım sırasında çözülen ve parçalanmış hücreler çoğunlukla fagositler tarafından hücre içi sindirime uğrayarak ortadan kaldırılmaktadır (Demirsoy, 1992). Hücrelerin içindeki bazı parçaların ortadan kaldırılmasını sağlayan organeller lizozomlardır. Metamorfoz sırasında lizozomların enzimleri ile çok sayıda hücre ve doku parçalanarak sindirilmektedir. Böcek kan hücrelerinin fagositleme yeteneğinde olan tiplerinde görülen granüllerin bir çoğunun lizozom

¹ Ankara Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Bölümü, 06110 - Ankara

² Trakya Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Bölümü - Tekirdağ

özelliğinde yapılar olduğu belirtilmektedir (Karol, 1988). Fagositleme özellikleri en yüksek olan hücrelerin plasmatoocyte'ler olduğu bir çok araştırmacı tarafından bildirilmektedir (Jones, 1977;Grupta, 1979; Rowley and Ratcliffe, 1981). Fagositlemede kan hücrelerinin bir çok yabancı cisim ve fizyolojik olaylar sonucunda parçalanarak doku artıklarını aktif olarak sitoplazmalarına aldıkları görülmüştür (Jones, 1977).

Bu çalışmada holometabol bir böcek olan *A. segetum*'un prepupa ve pupa dönemi süresince kan hücrelerinde görülen bazı morfolojik değişimler incelenmiştir. Böylece kan hücrelerinde görülen bazı değişiklikler aracılığı ile bunların başkalaşımdaki rolleri, 7 özellikle histoliz olayındaki etkinlikleri belirlenmeye ve yorumlanmaya çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Denemede kullanılan *A. segetum* prepupa ve pupaları $25 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklık ve % 60-70 orantılı nem ve 14 saat ışıklandırma koşullarında taze ıspanak ile beslenerek yetiştirilen larvalardan elde edilmiştir. Denemeye bir günlük prepupalardan başlanmış ve ergin çıkana kadar her gün dörder bireyden kan örneği alınmıştır. Kan örnekleri 3. thorax segmentinin dorsalinden bir iğne

yardımı ile alınıp ilk çıkan kan kullanılmıştır. Kan alınan prepupa ve pupalar ikinci kez kullanılmamıştır.

Kan hücrelerinin morfolojik özelliklerinin ve değişimlerinin saptanmasında kullanılan preparatlar Romais (1968) ve Kılınçer (1972, 1976) tarafından verilen yöntemlere göre hazırlanmış ve Giemsa ile boyanmıştır. Toplam kan hücrelerinin sayımları histoliz nedeniyle yapılamamıştır.

Bulgular ve Tartışma

Prepupa ve pupa döneminden alınan kan örneklerinden yapılan incelemelerde başkalaşım süresince hemocyte'lerde önemli morfolojik değişimler görülmüştür. Larva dönemi süresince görülen prohemocyte, plasmatoocyte, adipohemocyte, spherulocyte, oenocytoid ve kristalli hücrelere (Bayram ve Kılınçer, 1987, 1996) prepupa dönemi süresince de rastlanmıştır. Prepupa döneminin başlangıcında hücrelerde hızlı bir parçalanma görülmektedir. Toplu şekilde yer yer doku parçaları gözükmemektedir (Şekil 1). Bunların arasında kan hücreleri ve parçalanmış hücrelerin çekirdeklerine rastlanmaktadır. Kan hücrelerinden plasmatoocyte, prohemocyte, adipohemocyte ve kristalli hücreler çoğunlukta görülmektedir. Ancak spherulocyte ve



Şekil 1. Bir günlük *A. segetum* prepupalarında kan hücreleri. Oklar, parçalanmış hücreleri göstermekte; k, kristalli hücreler; a, adipohemocyte; pl, plasmatoocyte; p, prohemocyte (x 1000)



Şekil 2. Bir günlük *A. segetum* prepupalarında kan hücreleri. A. adipohomocyte; pl, plasmatocyte; p, prohemocyte (x 1000)



Şekil 3. İki günlük *A. segetum* prepupalarında kan hücreleri. Oklar, aşırı fagositleme sonucu sitoplazmaları farklı büyüklükteki granüllerle dolu olan hücreleri göstermekte; s, spherul şeklinde tanelerle dolu olan hücreler (x 1000)

oenocytoid'lere ise ender olarak rastlanmıştır (Şekil 1 ve 2). Larva dönemi süresince görülen bazı iri plasmatocyte'lere ve adipohemocyte benzeri hücrelere (Bayram ve Kılınçer, 1996) prepupa dönemi süresince de rastlanmıştır. Hücrelerin büyük bir kısmının sitoplazmalarında fazla sayıda değişik büyüklük ve renkte granüller görülmektedir (Şekil 3 ve 4). Plasmatocyte'lerin granüllü bir yapı göstermesi yoğun fagositleme faaliyetinin bir sonucu olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca büyük bir kısmının sitoplazmik uzantılar oluşturduğu görülmüştür. Bazı hücrelerin içerisinde spherul şeklinde tanelerle dolu olduğu görülmektedir (Şekil 3). Crossley (1975), bazı böceklerde plasmatocyte'lerin pupa dönemine doğru sayılarının arttığını ve sitoplazmalarının doku parçacıkları

ile dolduğunu bildirmektedir. Bayram ve Kılınçer (1996), plasmatocyte'lerin *A. segetum*'da larva gelişimi süresince bütün günlerde en fazla dolaşımda görülen hücreler olduğunu ve bu hücrelerin sayılarının son günlerde belirgin bir şekilde arttığını kaydetmektedirler. Snodgrass (1935), pupa dönemine doğru özellikle kas doku parçacıklarının plasmatocyte'lerin sitoplazmalarında biriktiğini belirtmektedir. Kılınçer ve Gürkan (1987), *Leptinotarsa decemlineata*'da başkalaşıma doğru plasmatocyte'lerin oransal olarak artmasını fagositleme yetenekleri olan bu hücrelerin başkalaşımda aktif bir rol almalarının bir göstergesi olabileceğini bildirmektedirler. *A. segetum* prepupalarında gerek plasmatocyte'lerde ve gerekse adipohemocyte'lerde aşırı fagositlemeden dolayı



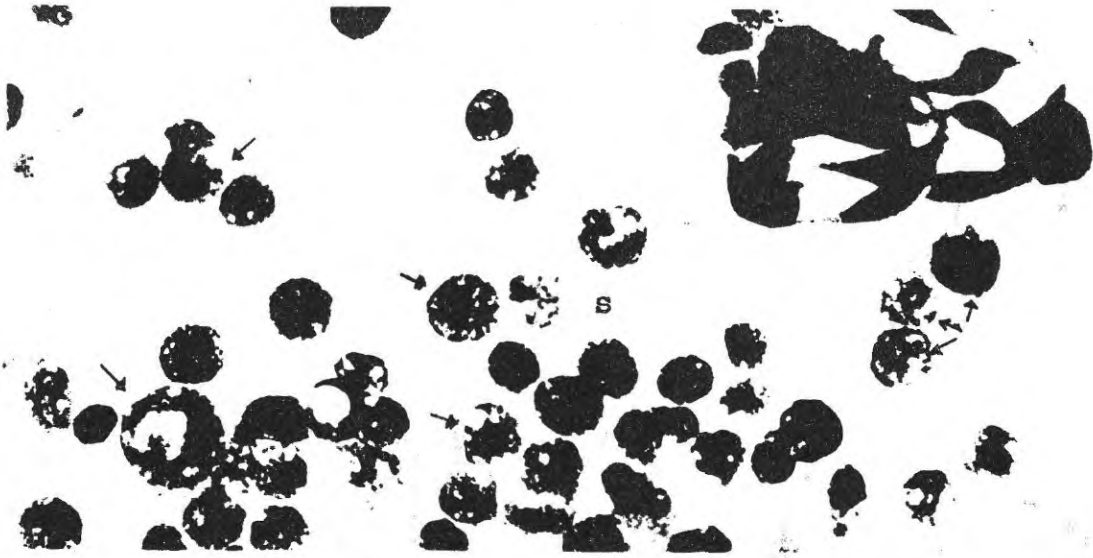
Şekil 4. Üç günlük *A. segetum* prepupalarında parçalanmış kan hücreleri. Oklar, kristal parçaları; g, aşırı fagositleme sonucu sitoplazması granüllerle dolu olan hücre (x 1000)

patlamalar görülmektedir (Şekil 1 ve 4). Prepupa döneminin ortasından itibaren ise prohemocyte, plasmatocyte ve adipohemocyte'lerde bir yenilenme ve artma eğilimi gözlenmiştir. Ayrıca hücrelerde mitoz bölünmelere rastlanmıştır. Ancak prepupa döneminin sonunda hücrelerde tekrar parçalanmanın arttığı gözlenmiştir. Doku parçalarının arasında fazla miktarda kristal tanelerine de rastlanmıştır (Şekil 4).

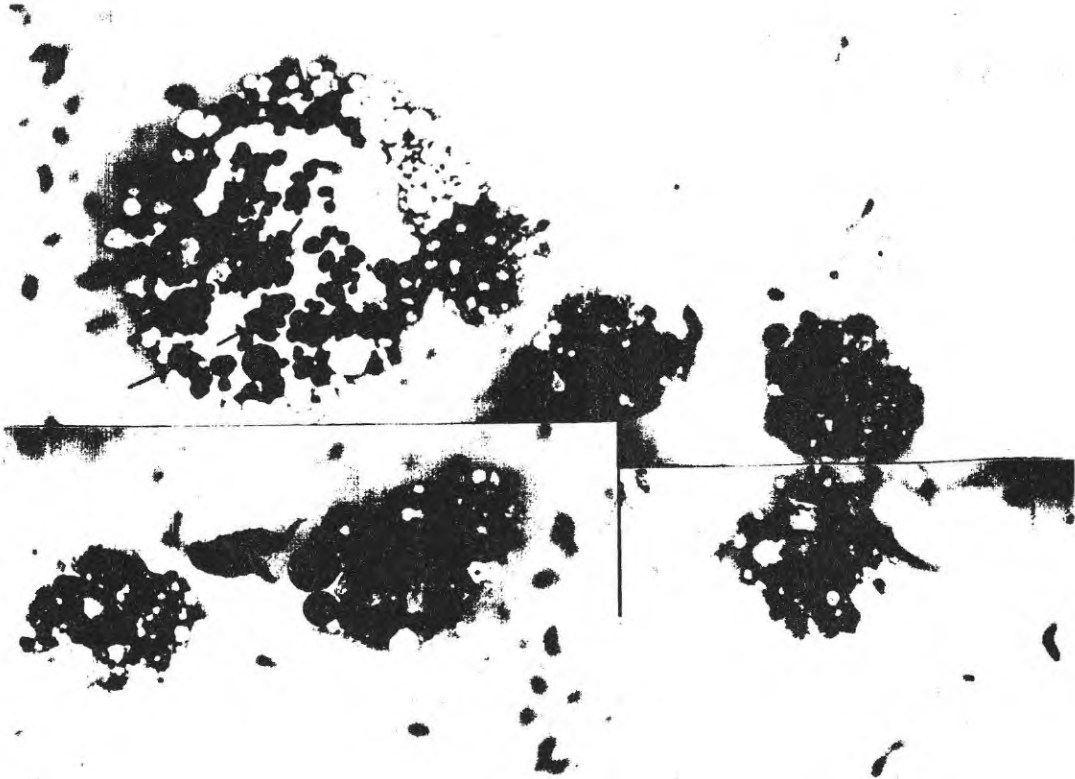
Bütün pupa dönemi süresince yapılan incelemelerde ise sadece prohemocyte, plasmatocyte ve adipohemocyte'lere rastlanmıştır. Ancak spherulocyte ve oenocytoid'lere rastlanmamıştır. Yine prepupa döneminde olduğu gibi içlerinde granüller oluşmuş plasmatocyte'lere pupa döneminde de rastlanmıştır. Bazı hücrelerin içlerinde prepupa döneminde olduğu gibi spherul şeklinde tanelerle dolu olduğu görülmüştür (Şekil 5 ve 6). Rowley and Ratcliffe (1981), sitoplazmaları doku parçacıkları ile dolan plasmatocyte'lerin bazı araştırmacılar tarafından yanlışlıkla spherulocyte olarak isimlendirildiğini bildirmektedirler. Bu hücrelere *A. segetum*'un larva döneminin sonunda da rastlanmıştır (Bayram ve Kılınçer, 1996). Larva dönemi boyunca bazı günlerde görülen ve iri plasmatocyte'leri oluşturan hücreler (Bayram ve Kılınçer, 1996) pupa döneminde özellikle 3. günden itibaren görülmeye başlanmıştır. Özellikle 5. günden itibaren anormal büyüklükte dev

hücreler belirmiştir. Bu hücreler iri çekirdekli ve fazla sayıda sitoplazmik uzantıları olan dev plasmatocyte'lerdir (Şekil 7).

Tüm pupa dönemi süresince plasmatocyte ve adipohemocyte'lerin aşırı fagositleme yaptıkları ve bu nedenle de büyük bir çoğunun parçalandığı görülmüştür. Ancak başkalaşım süresince yine de bazı günlerde yeniden bazı kan hücrelerinin prepupa döneminde olduğu gibi tekrar oluştuğu ve hatta mitozla bölündükleri görülmüştür (Şekil 8). Hemolimf içerisinde larva dönemi süresince görülen ve hatta larva dönemi sonuna doğru sayıları artan kristalli hücrelere (Bayram ve Kılınçer, 1996) pupa dönemi süresince ilk günlerde de ender olarak rastlanmıştır, daha sonraki günlerde ise rastlanmamıştır. Ancak hemolimfte pupa dönemi boyunca fazla sayıda kristal parçalarına rastlanmıştır (Şekil 9). Bu kristal parçaları muhtemelen kristalli hücrelerin histoliz esnasında parçalanması ile hemolimf içerisinde açığa çıkmaktadır. Kristalli hücrelerden oenocytoid'lerin melanin oluşumuna yol açan trozinin oksidasyonunda, katalizör etkili trozinaz enzimini kristaller halinde sitoplazmalarında ve çekirdeklerinde içerdikleri bildirilmektedir. Bu nedenle de parçalanmaları sonucunda melanin oluşumuna neden oldukları bu konuda çalışan bir çok araştırmacı tarafından belirtilmektedir (Rizki and Rizki, 1959).



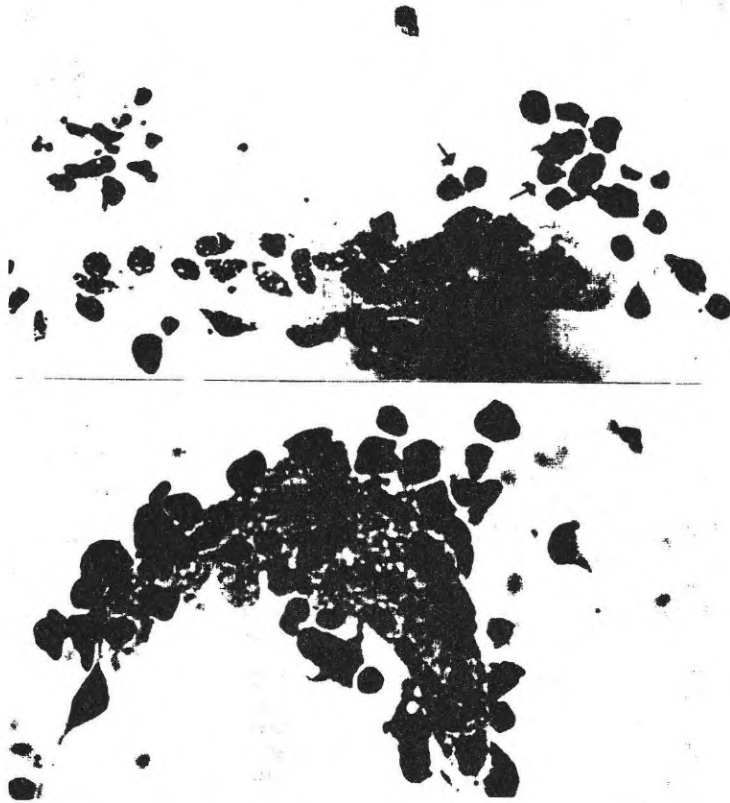
Şekil 5. Bir günlük *A. segetum* pupasında kan hücreleri. Oklar, içleri granül dolu hücreler, s, spherül şeklinde tanelerle dolu olan hücreler (x 1000)



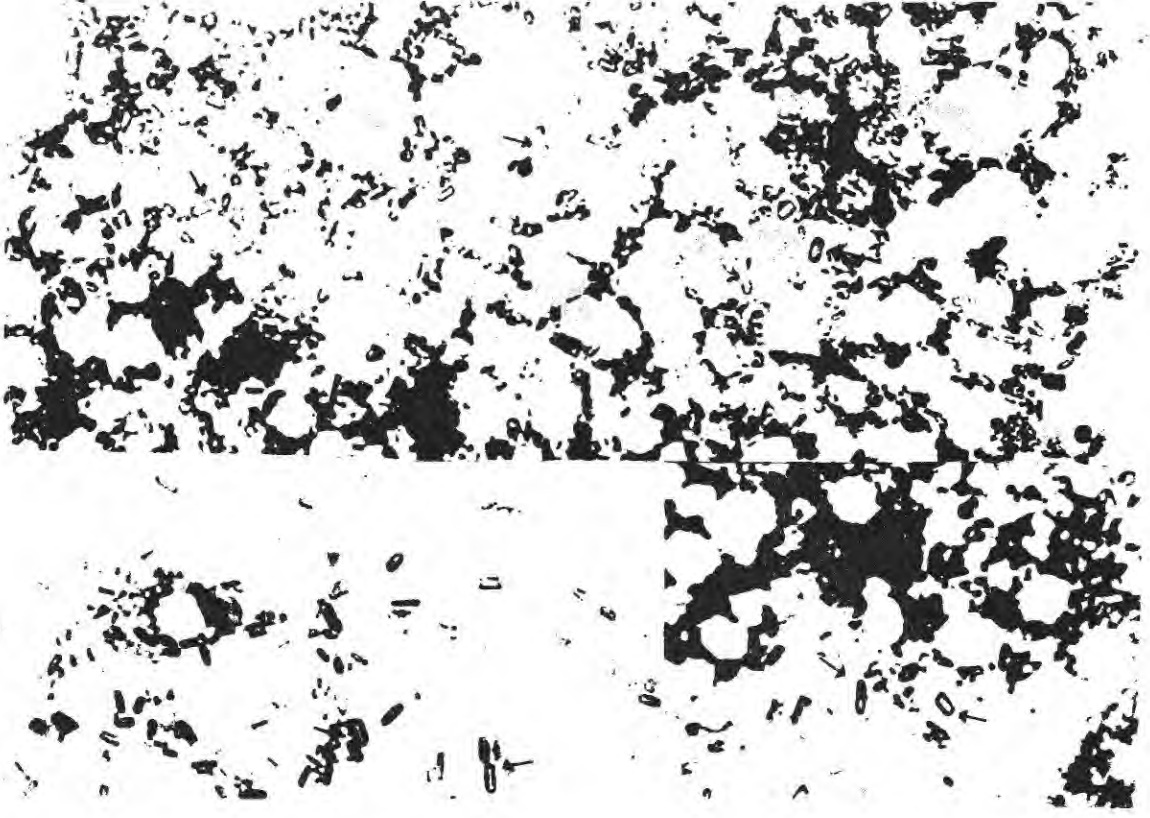
Şekil 6. İki günlük *A. segetum* pupasında aşırı fagositenme sonucu içleri granüllerle dolu olan ve patlayan plasmacyte'ler. Oklar, kristalleri (x 1000) gösterir.



Şekil 7. Beş günlük *A. segetum* pupasında dev plasmatocyte'ler (X 1000)



Şekil 8. Dört günlük *A. segetum* pupasında kan hücreleri. Oklar, mitoz bölünmeyi (X1000) gösterir.



Şekil 9. Yedi günlük *A. segetum* pupasında parçalanmış kan hücreleri. Oklar kristal parçalarını göstermekte (X1000).

Gerek prepupa ve gerekse pupa döneminde, hormonal değişimden kaynaklanan bir farklılaşma oluşmakta, bu da böceklerde temel morfolojik değişimlere neden olmaktadır (Wigglesworth, 1972). Larvaya özgü organ ve dokuların çözülmesi ve yeni oluşumlar süresince kan hücrelerinin çok önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir. Gerek çözülme süresince ve gerekse, kanda oluşan partiküllerin eliminasyonunda fagositleme yeteneğine sahip kan hücreleri çok önemli bir işleve sahiptirler. Bu hücreler çözülme sırasında kana karışan parçaları sitoplazmalarına alarak ya sindirmekte ya da kristaller veya kürecikler halinde depolamaktadırlar. Bazı böceklerde kimyasal otoliz ve fagositozun yan yana yer aldığı belirtilmektedir. Bu yazarlara göre hemocyte'lerin başlıca görevi fagositozdur. Histoliz süresince ölü doku ve hücre artıklarının temizlenmesinden plasmotocyte'ler sorumludur (Wigglesworth, 1972; Richard and Davies, 1977). *A. segetum* prepupa ve pupalarında gerçekleştirilen seri preparatlarla başkalaşım süresince kan hücrelerindeki önemli değişiklikler gözlenmiş ve gösterilmiştir. Başkalaşım süresince plasmotocyte'lerin

aktif olarak rol oynadıkları hatta bunların özel tiplerinin oluştuğu gözlenmiştir.

Kaynaklar

- Bayram, Ş. ve N. Kılınçer, 1987. *Periscepsia carbonaria* (Panz.) (Diptera: Tachinidae)'nın parazitlediği *Agrotis segetum* (Den-Schiff.) (Lepidoptera: Noctuidae) larvalarının kan hücrelerinde bazı değişimler. Türkiye 1. Ent. Kongresi Bildirileri Ent. Derneği Yayınları, No: 4, İzmir.
- Bayram, Ş. ve N. Kılınçer, 1996. *Agrotis segetum* (Den. Schiff.) (Lepidoptera: Noctuidae) larvalarında kan hücrelerinin oluşumu ve değişimi üzerinde araştırmalar. Türkiye III. Ent. Kongresi Bildirileri, Ankara Üniversitesi Basımevi, (24-28 Eylül) Ankara.
- Crossley, C.A., 1975. The Cytophysiology of Insect Blood. *Advances in Insect Physiol.* V: 11: 117-221.
- Demirsoy, A., 1992. Yaşamın Temel Kuralları. Omurgasızlar / Entomoloji. Cilt II / Kısım- II. Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Beytepe / Ankara; 941 s..

- Gupta, A.P., 1979. **Hemocytes types: Their structure synonymies, interrelationships and taxonomic significance** (Ed. A.P. Gupta). Cambridge Universty Press. Cambridge, London, New York, 85-127.
- Jones, J.C., 1977. **The Circulatory System of Insects**. Springfield, Ill: Charles C. Thomas, 116 p
- Kansu, İ.A., 1994. **Genel Entomoloji**. Altıncı baskı (Gözden geçirilmiş). Kıvanç Basımevi, Ankara, 426 s. Karol, S., 1988. **Hücre Biyolojisi**. İkinci baskı (Gözden geçirilmiş) A.Ü. Fen.Fakültesi Yayınları: Ders Kitabı, Ankara, 420 s.
- Kılınçer, N., 1972. **Untersuchungen Über Die Ursachen Des Ausbleibens Einer Hamocytaren Abwehrreaktion Der Puppen Von *Galleria mellonella* L. Gegen Den Puppenparasiten *Pimpla turionellae* L.** Die Forstlichen Fakultät der Georg-August-Universität zu Gottingen, Dissertation 90 pp.
- Kılınçer, N., 1976. ***Dibrachys cavus* (Walk.) (Hym.-Pteromalidae), *Bracon hebetor* Say (Hym.-Braconidae) ve *Galleria mellonella* L. (Lep.-Galleridae) Arasındaki Bazı Biyolojik ve Fizyolojik İlişkiler Üzerinde Araştırmalar**. Doçentlik Tezi, Ankara, 141 s.
- Kılınçer, N. ve M. O.Gürkan, 1987. ***Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae)'da başkalaşım sırasında kan hücrelerinde görülen morfolojik ve sayısal değişimler üzerinde araştırmalar**. Türkiye 1. Ent. Kongresi Bildirileri Ent. Derneği Yayınları, No: 4. İzmir.
- Romais, B., 1968. **Mikroskopische Technik**. 16. Aufl. R. Oldenbourg Verlag Munchen.
- Rowley, A.F. and N.A. Ratcliffe, 1981. **Invertebrate Blood Cells**. Academic press, London-New York, Vol.2: 421-480.
- Richards, O.W. and R.G. Davies, 1977. **Imm's general textbook of entomology**, Tenth Edition, Vol: 1. Chapman and Hall, London, 418p.
- Rizki, M.T.M. and R.M. Rizki 1959. **Functional Significance of the crystall cells in the larva of *Drosophila melanogaster***, J. Biophys. Biochem. Cytol. 5: 235-240.
- Snodgrass, R.E., 1935. **Principles of Insect Morphology**. McGraw Hill Book Company New York, London, 667p.
- Wigglesworth, V.B., 1972. **The principles of Insect physiology**. Seventh Edition. Chapman and Hall, London, 827p.