

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

***MELANOGRYLLUS DESERTUS* (PALLAS, 1771)
(ORTHOPTERA: GRYLLIDAE)’TA MALPİGHİ
TÜPÇÜKLERİNİN MORFOLOJİ VE HİSTOLOJİSİ**

Gizem ACAR

Biyoloji Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 401.04.00

Sunuş Tarihi : 10.12.2009

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Gürsel ERGEN

Bornova-İZMİR

2009

Gizem ACAR tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan ““*Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771) (Orthoptera: Gryllidae)’ta Malpighi Tüpçüklerinin Histoloji ve Morfolojisi” 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 10.12.2009 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı :	Prof. Dr. Gürsel ERTEN	
Raportör Üye:	Doc. Dr. Semra İSKİT ÜÇÜNCÜ	
Üye	Prof. Dr. Özdemir EĞEMEN	

ÖZET

***MELANOGRYLLUS DESERTUS* (PALLAS, 1771) (ORTHOPTERA:
GRYLLIDAE)’TA MALPİGHİ TÜPÇÜKLERİNİN MORFOLOJİ VE
HİSTOLOJİSİ**

ACAR, Gizem

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Gürsel ERGEN
Aralık 2009, 23 sayfa

Bu tezde *Melanogryllus desertus*’un boşaltım organı olan Malpighi tüpçüklerinin morfoloji ve histolojisi incelenmiştir. Stereomikroskop altında, böcek fizyolojik suyu içinde disekte edilen böceğin Malpighi tüpçüklerinin morfolojisi Olympus SZX7 stereomikroskop ile görüntülenmiş, distal ve proksimal olmak üzere iki bölge ayırt edilmiştir. Bunun yanısıra tüpçüklerin esnek bir yapıya sahip olduğu, kapalı uçları ile hemolenfte serbest olarak yer aldıkları gösterilmiştir.

Malpighi tüpçüklerinin histolojik yapısı Mayer’s Hematoksilin Eozin boyama tekniği ile boyanarak ortaya konmuştur. Tüpçükler, tek katlı kübik epitelden oluşurlar.

Anahtar sözcükler: *Melanogryllus desertus*, Malpighi tüpçükleri, böcek boşaltım sistemi

ABSTRACT

**MORPHOLOGY AND HISTOLOGY OF MALPIGHIAN TUBULES OF
MELANOGRYLLUS DESERTUS (PALLAS, 1771)
(ORTHOPTERA: GRYLLIDAE)**

ACAR, Gizem

MSc in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Gürsel ERGEN

December 2009, 23 Page

In this research, the morphology and histology of Malpighian tubules as being the excretory organ of *Melanogryllus desertus*, was investigated. The morphology of the Malpighian tubules were observed via Olympus SZX7 stereomicroscope. It was revealed that every tube has two zones which were differentiated as distal and proximal. Furthermore, tubules were flexible and were terminated blindly in the hemolymph.

Histology of Malpighian tubules were displayed by staining with Mayer's Hematoxylin Eosin. The tubules were consisted of single layer cuboidal epithelium cells.

Key words: *Melanogryllus desertus*, Malpighian tubules, insect excretory system

TEŞEKKÜR

Öncelikle, bu çalışmada sabır ve sonsuz desteği ile her zaman yanımda olan danışman hocam, Zooloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gürsel ERGEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Aynı zamanda, çalışma sırasında bilgi ve yardımlarını benden esirgemeyen Nermin BİTER'e; çekirge kültüründen faydalandığım Dr. Özlem ÇAKICI ve yüksek lisans öğrencisi Deniz ÖNEN'e; fotoğraf çekimlerinde, Araş. Gör. Dr. Bekir KESKİN ve Gözde GÜRELLİ'ye; tez yazımında Deniz YALÇINKAYA'ya yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca hayatımın her aşamasında benimle olan, beni destekleyen sevgili annem Şenhal ACAR'a ve eşim Hasan KAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE METOT	7
3. BULGULAR	9
3.1 Morfolojik Yapı	9
3.2 Histolojik Yapı	11
3.3 Morfometrik Analizler	15
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	17
4.1 Morfolojik Yapı	17
4.2 Histolojik Yapı	18
4.3 Morfometrik Analizler	19
KAYNAKLAR DİZİNİ	21
ÖZGEÇMİŞ	23

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil

Sayfa

1.1 ... Malpighi tüpçüklerindeki sıvının boşaltımını gösteren genel bir şema (Nation, 2002).....	2
1.2 Coleoptera ve Lepidoptera’da gözlenen kriptonefridik tüpler (Nation, 2002).....	2
2.1 <i>M. desertus</i> kültür laboratuvarında çekirgelerin yaşam ortamı	7
3.1.1 <i>M. desertus</i> ’un Malpighi tüpçükleri ve sindirim sisteminin genel görünüş.....	9
3.1.2 Malpighi tüpçüklerinin proksimal ve distal bölümleri	10
3.1.3 Tek bir Malpighi tüpçüğünün proksimal ve distal bölgeleri	10
3.2.1 Malpighi tüpçüklerinin sindirim sisteminde orta ve son bağırsak birleşim yeriyle (B) bağlantıları	12
3.2.2 Toplu halde gömülen Malpighi tüpçüklerinin enine kesitlerinden genel görünümü. P, proksimal; D, distal bölgeler	12
3.2.3 Malpighi tüpçüklerinin proksimal ve distal bölgelerden geçen enine kesit görüntüleri. P, proksimal; D, distal; FK, fırçası kenar.....	13
3.2.4 Proksimal (P) ve distal (D) bölgelerden enine kesitler. Proksimalde daha yüksek epitel ile çevrili, daha dar lümen (L); distalde daha geniş lümeni çevreleyen ve göreceli olarak daha ince epitelyum.....	13
3.2.5. Distal bölgeden enine kesitte çöküntü nukleus (ÇN), fırçası kenar (FK), sınırları ayırt edilemeyen epitel hücrelerinde vakuoller (V), lümen (L).....	14
3.2.6 Distal bölgeden enine kesitte fırçası kenar (FK), sınırları ayırt edilemeyen epitel hücrelerinde vakuoller (V), çöküntülü nukleus (ÇN)	14
3.3.1 Malpighi tüpçüklerinde yapılan morfometrik analizleri gösteren çizim...	15

ÇİZELGELER DİZİNİ**Çizelge****Sayfa**

- 3.3.1. Malpighi tüpçüklerinin bazı morfometrik ölçümlerine dair özet
istatistikler. Student-T testine göre metrik karakterlere; MannWithney-U
testine göre ise meristik karakterlere ilişkin elde edilen istatistik değerler.
N: örnek sayısı, SD: Standart sapma, SE: Standart hata 15

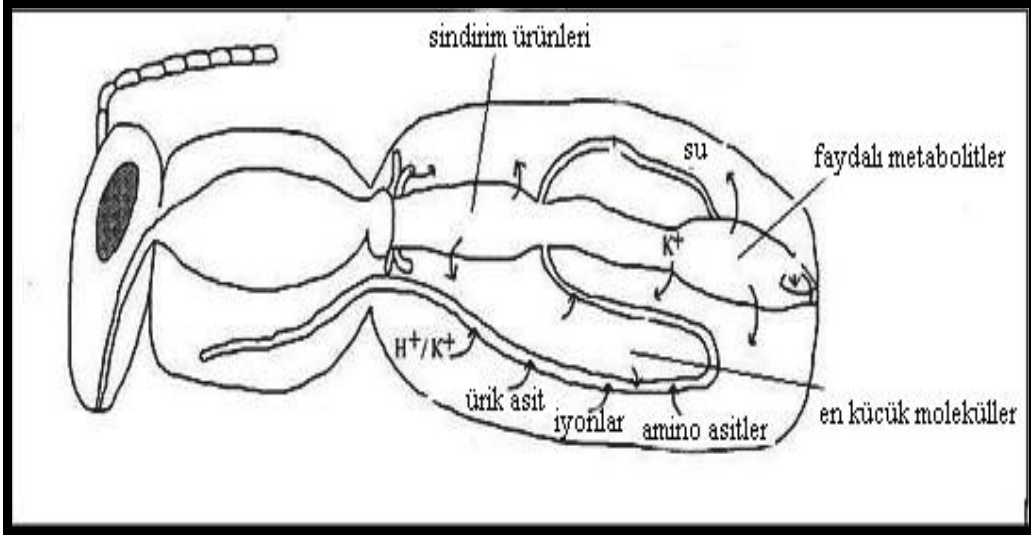
1. GİRİŞ

Metabolizma artıklarının vücuttan uzaklaştırılmasına genel anlamda boşaltım adı verilmektedir. Glikoz, aminoasitler ve bazı iyonlar gibi yararlı maddeler bile çok fazla miktarda oldukları zaman zararlı olabilirler ve boşaltılmaya ihtiyaç duyarlar. Böceklerde başlıca boşaltım maddeleri, suyun fazlası, tuz, nitrojen artıkları (ürik asit gibi) ve diğer bazı zararlı organik bileşiklerdir. Bir diğer deyişle su ve iyonlarla sindirilmemiş maddeler, kimyasallar ve azotlu metabolitler bir böceğin boşaltma ihtiyacı duyabileceği maddelerdir.

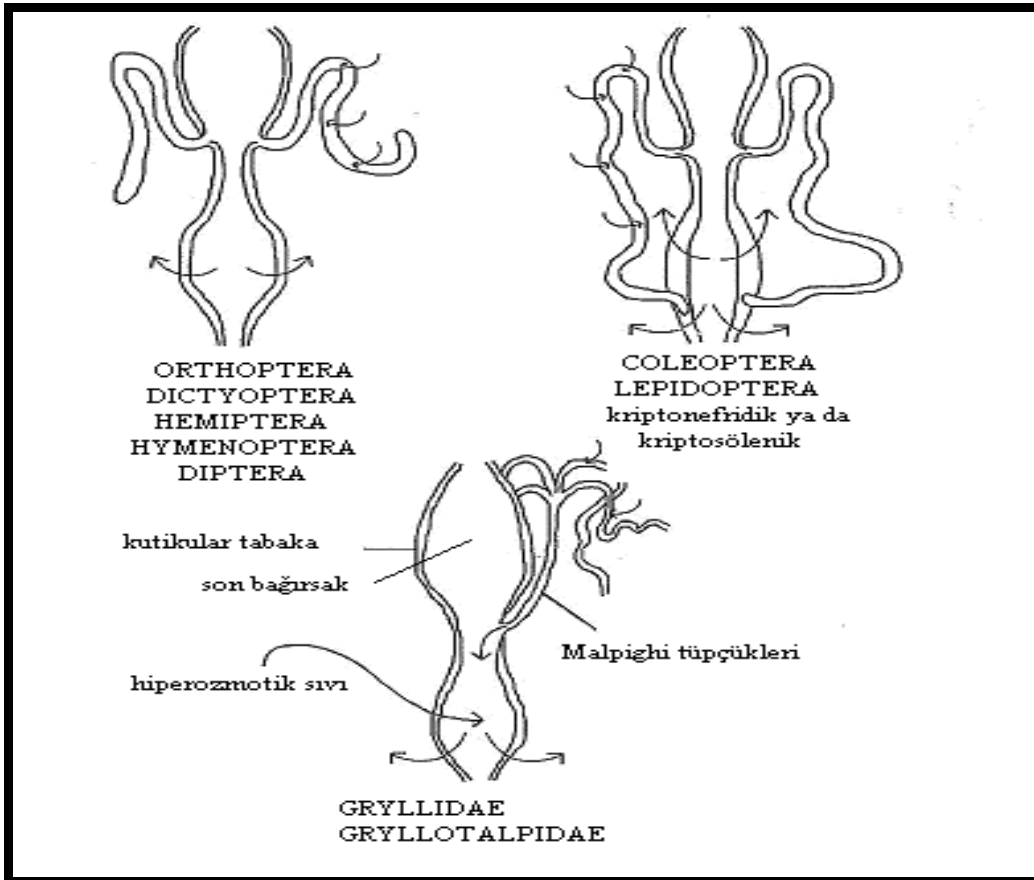
Boşaltım, omurgalılarda böbrekler tarafından, böceklerde ise temelde Malpighi tüpçükleri tarafından yapılır (Singh and Hou; 2009). Pek çok böcekte olduğu gibi *Melanogryllus desertus*'da (Kara çekirge) da boşaltım organı Malpighi tüpçükleridir. İpekböcekleri ile ilgili çalışmasında bu organlardan “*vasa varicosa*” olarak bahseden (1669) Marcello Malpighi'den (1628 – 1694) sonra sözkonusu yapıları Georges Cuvier gibi araştırmacılar “bilyer organlar” olarak kaydetmişlerdir. 1815'te Herold ve aynı yıl içinde Brugnatelli tarafından içlerinde ürik asidin bulunmasıyla, bu yapıların boşaltım fonksiyonları olduğu genel olarak kabul edilmiş ve 1829'da Meckel yapıları “Malpighi tüpçükleri” olarak isimlendirmiştir (Wigglesworth, 1965).

Böceklerde genel olarak boşaltım sistemi, beraber çalışan iki organdan oluşur: Malpighi tüpçükleri ve son bağırsak. Böcek boşaltım sistemi temel olarak bir salgılama ve geri emilim sistemidir (Şekil 1.1). Vücut hücrelerindeki ürik asit hemolenfe geçer ve Malpighi tüpçükleri etrafında toplanır. Tüplerin bir kısım hücreleri veya hepsi ürik asidi sıvı halde absorbe ederek tüp lümenine boşaltırlar. Nitrojen artıkları ve elektrolitler tüpçük duvarından Malpighi tüpçüklerine ulaştığı zaman ilk idrar meydana gelir. Sodyum ve potasyum gibi iyonlar aktif pompa mekanizması ile taşınırken üre ve amino asitler gibi artıkların tüpçük duvarından geçtiği, bunları da suyun takip ettiği düşünülmektedir. İlk idrar, sindirilmiş besinlere son bağırsakta dahil olur. Bu anda ürik asit atılır, sodyum ve potasyum iyonları su ile birlikte rektumda ozmoz ile aktif olarak geri emilir, ürik asit dışkı ile karışır ve dışarı atılır (Nation, 2002). Faydalı moleküllerin boşaltım sıvısından geri emilimi, temel olarak son bağırsakta meydana gelir (Maddrell and Gardiner, 1974). Bu boşaltım mekanizması devamlı olarak suya ihtiyaç duyar. Bu yönden

su, diğer canlılarda olduğu gibi böceklerde de çok büyük öneme sahiptir. Aynı şekilde Na^{++} ve K^{+} tuzlarına da ihtiyaç vardır. Bu maddeleri, sudan ve üreden ayırarak tekrar kana geçirecek veya tüplerin üst ucuna gönderecek birçok organizasyon gelişmiştir (Nation, 2002).



Şekil 1.1 Malpighi tüpçüklerindeki sıvının boşaltımını gösteren genel bir şema (Nation, 2002)



Şekil 1.2 Coleoptera ve Lepidoptera'da gözlenen kriptonefridik tüpler (Nation, 2002).

Roeder ve College (1953) genel olarak böceklerde Malpighi tüpçüklerinin dört gruba ayrılabilceğini bildirmişlerdir. Bu grupların en basiti Orthoptera, Dermaptera, Neuroptera ve bazı Coleoptera türlerinde görülür ve tüpler mezenteron ve proktodeumun birleşme noktasından sindirim sistemine katılırlar. Bu grubun tüpçüklerinin distal uçları hemolenfte serbesttir ve kör olarak sonlanır. Tüplerin içeriği genelde sıvıdır, ancak kuru ortamda ya da patolojik koşullarda bulunan böceklerde kristal halde izlenir. Proksimal ve distal bölümlerde histolojik farklılıklar gözlenmez.

İkinci gruba ait Malpighi tüpçüklerinin birinci gruptan farkı, distal uçlarının rektal yapıya yapışık olarak sonlanmasıdır. Bunun yanı sıra tüpçükler rektumun yüzeyinde uzanırlar ve membran katlanmalarıyla bu yapıya tutunurlar. Lepidoptera, Coleoptera ve Hymenoptera'nın bazı familyalarında görülen bu tip tübüllere kriptosolenik ya da kriptonefridik tübül sistemi adı verilen bu oluşum, suyun verimli korunmasını sağlayan bir düzen olarak görülür (Nation, 2002). Kuru habitatta yaşayan ve çok kuru besinleri alan böcekler kriptonefridyal tüplerin en gelişmiş yapılarına sahiptir (Şekil 1.2). Patton ve Craig tarafından 1939'da yapılan çalışmada *Tenebrio molitor*'da bu tüplerin yapısı ortaya konmuştur (Roeder and College, 1953).

Malpighi tüpçüklerinin üçüncü grubu pek çok Hemiptera'da gözlenir. Wigglesworth (1931), *Rhodnius prolixus*'ta bu yapıyı incelemiş ve *Rhodnius*'un dört adet Malpighi tüpçüğünün distal uçlarının serbest olduğunu ve birer ampula ile bağırsağa bağlandığını bildirmiştir (Roeder and College, 1953). Wigglesworth'a göre her bir tüp iki segmentten oluşur: 1) Yukarı (distal) segment, tüpçüğün 1/3'ünü kapsar, lümende şeffaf sıvının yer aldığı bol granüllü epitel hücrelerinden yapılmıştır. Bu segmentin çizgili kenarı "Peteksi Kenar" (Honeycomb border) görünümündedir. 2) Aşağı (proksimal) segment ise tüpçüğün 2/3'ünü kapsar, epiteli granülsüzdür ve lümende damlacıklar halinde idrar gözlenir. Bu segmentin çizgili kenarı ise tipik "Fırça Kenar" görünümü verir.

Malpighi tüpçüklerinin dördüncü grubu ise, ikinci ve üçüncü gruba ait tüplerin kombinasyonudur. Bu tüpler Lepidoptera'da çok yaygındır.

Beams vd. (1955) *Melanophus differentialis differentialis* (Thomas) ile yaptıkları çalışmada, Malpighi tüpçüklerinin uzun, esnek ve vücut boşluğunda

kapalı uç ile sonlandıklarını kaydetmişlerdir. Sayıları 200–300 arasındaki bu tüpçüklerin her biri, bir trake ile kas fibrilleri tarafından spiral şekilde ve uzunlamasına sarılır. Bu düzenlenme, yapının vücut boşluğunda rahatça salınmasında avantaj sağlamaktadır. Bazal, intermediyal ve apikal zon olarak üç bölgeye ayrılan tüpçüklerde bazal zonun çapı 25–150 μm 'dir. Tüpçüklerinin enine kesitlerinde 4–6 epitel hücresi bulunur. Bazal zonda mitokondriyumların dışındaki organelleri izlenemeyen küçük hücreler ve bolca vakuol bulunur. Intermediyal zonda geniş, küresel ya da oval nükleuslu hücreler yer alır. Apikal zonda ise fırça kenar hücreler gözlenir. Fırçası kenar yaklaşık 1 μm eninde ve 3-4 μm uzunluğundaki sitoplazmik uzantılardan meydana gelir.

Savage (1962), *Carausisus morosus* ile yaptığı çalışmada üç tipte tübüller eklenti tanımlamıştır. Bunlar 'orta bağırsak eklentileri', 'üst (superior)' tübüller, 'alt (inferior)' tübüller olup, hepsi orta bağırsağa açılmaktadır.

Harvey ve Nedergaard (1964) *Cecropia* ipekböceğinde orta bağırsağın trake ve sinirlerle donanmış kaslı yapısını ortaya koymuşlardır. Elektron mikroskobu gözlemlerine göre epitel hücreler arasındaki boşluklar, sıkı bağlantı (zonula okludens) yapmak için apikal kenarlarını daraltırlar. Hücrelerarası difüzyon hattı lateral hücre zarının içe doğru katlanmaları ile genişler ve lateral yüzeydeki hücrelerarası bölgede septat dezmozomlar bulunur. Buna karşılık hücre içi difüzyon yolu, bazal hücre zarının düzenli katlanmaları ile oldukça kısalmıştır. Araştırmacılar, *Cecropia* ipekböceği orta bağırsağında ince yapının *Malacosoma* (Yüzük Kelebeği) bağırsağı, çekirge Malpighi tüpçükleri ve memelilerin böbrek tübülleri ile benzer olduğunu göstermişlerdir.

Harvey ve Nedergaard (1964) *Rhodnius prolixus* ve *Aedes taeniorhynchus* türlerinde Malpighi tüpçüklerinin hücre tiplerini araştırmışlardır. Buna göre bir hemipter olan *R. prolixus*'daki tüpçükler üst ve alt tüpçükler olarak iki bölgeye ayrılmaktadır, her bir bölge farklı hücre tiplerine sahiptir. Üst tüpçük hücreleri alt tüpçük hücrelerinden daha geniştir. Bu hücrelerin içerdiği küresel şekilli, mineralize birikmeler alt tüpçük hücrelerinde bulunmaz (Wigglesworth and Salpeter, 1962; Bradley, 1983; William vd.'den, 1984). İki hücre tipi farklı fizyolojik özellikler sergilerler. Örneğin, alt tüpçük hücreleri ürik asidi ya da potasyum klorürü salgılamak, üst tüpçük hücrelerinin de üriner sıvıyı salgıladığı

bilinir. Bir dipter olan *A. taeniorhynchus*'un Malpighi tüpçüklerinde ise farklı bölgeler yerine, iki hücre tipinin heterojen düzenlenmeleri gözlenmektedir. Tüpçüklerdeki ana hücreler primer hücrelerdir. Diğer hücre tipine ise yıldızlı hücreler denir. Primer hücreler yıldızlı hücrelerden daha geniştir ve hücrelerarası alanda kristaller bulunur. Primer hücrelerin idrar üretiminde görev aldığı, yıldızlı hücrelerin de idrardan Na^+ geri Emilimi ile ilişkisi olabileceği öne sürülmüştür.

Dow vd. (1998), *Drosophila melanogaster*'de Malpighi tüpçüklerini incelemişler ve bu yapıların 2 mm uzunluğunda, 35 μm çaptaki tüpçüklerin o ana kadar gözlenen en küçük Malpighi tüpçükleri olduğunu kaydetmişlerdir

Kerber vd. (1998) *Drosophila*'nın boşaltım sistemindeki hücre çoğalması üzerine yaptıkları çalışmada, Malpighi tüpçüklerinin fonksiyonlarının larva ve erginde boşaltım olduğunu bir kez daha belirlemişlerdir. Tek katlı epitel hücrelerden oluşan, uçları kapalı olarak sonlanan tüpçükler iki bölümden oluşmaktadır ve ürik asit olarak atılan nitrojen artıklarını absorbe ettikleri hemolenfte serbest olarak bulunurlar. Tüpçükler, morfogenez süresinde son bağırsak primordiyumunda dört çıkıntı halindedirler. Hoch ve Jackle (1998) ise, yine *Drosophila* ile yaptıkları çalışmada, her bir tüpçüğün distal ucunda yer alan, genişlemiş haldeki “uç hücre” tarafından gönderilen mitojenik sinyaller ile, hücrelerin proliferasyonunun kontrol edildiğini öne sürmüşlerdir.

Liu vd. (1999) *Drosophila melanogaster* ile yaptıkları araştırmada, Malpighi tüpçüklerinin proktodeumdan köken aldığını göstermişlerdir.

Arab ve Caetano (2002), Ateş Karıncası *Solenopsis saevissima*'da Malpighi tüpçüklerinin son bağırsağın epitel tabakası ile ilişkisini ve fonksiyonunu araştırarak, proksimal, orta ve distal olmak üzere üç segmentli altı Malpighi tüpçüğü bulunduğunu göstermişlerdir. Bu araştırmada, daha uzun olan proksimal segmentteki hücrelerin, bol miktarda granülsüz endoplazmik retikulum ve yağ damlacıkları içerdiklerine dayanarak yağ sekresyonunda görev aldığı belirtilmiştir. Orta segment iyon transferi yapan epitel hücrelerden oluşmaktadır. Kısa olan distal segmentin ise yassılaştı ve rektum duvarına yapışmıştır, dolayısıyla dışkıdan su ve iyon geri Emiliminde rol alabileceği öne sürülmektedir.

Verilen literatür bilgilerinden anlaşılacağı üzere, böceklerde Malpighi tüpçüklerinin yapısı farklı amaçlara yönelik olarak ve çok değişik böcek türlerinde

ayrıntlarıyla araştırılmıştır. Ancak, özellikle Türkiye ve diğer bazı ülkelerde zararlı bir böcek türü olarak yaygın dağılım gösteren *M. desertus*'ta Malpighi tüpçüklerinin yapısına ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. Esas yayılışı Güney Avrupa, Kuzey Afrika, Sibirya, Orta Asya olan, ülkemizde Kara Çekirge olarak bilinen *Melanogryllus desertus* Pall. (Orthoptera: Gryllidae) yurdumuzun hemen hemen her bölgesinde, özellikle Batı ve Orta Anadolu bölgelerinde görülmekte olup; çimlenmekte olan tohumlar, sebzeler, şeker pancarı, tütün ve asma gibi bitkilere zarar verdiği bilinmektedir (Gümüüşsuyu, 1973).

Sunulan tezin amacı, *M. desertus*'ta Malpighi tüpçüklerinin morfolojik ve histolojik yapısının ışık mikroskobu düzeyinde incelenmesidir.

2. MATERYAL VE METOT

İzmir çevresinden toplanan *M. desertus* dişi ve erkek erginleri, 26 ± 2 °C sıcaklık, %45 – 50 bağıl nem ve doğal gün fotoperiyodundaki laboratuvar ortamında cam kavanozlarda (Şekil 2.1), marul ve kanatlı yemi (Yemta) ile beslenerek yetiştirilmiştir (Gümüştuyu, 1973; Çakıcı, 2008) Çekirgelerin su gereksinimleri ağzı pamukla tamponlanmış su dolu cam tüplerin kavanozlara ters çevrilerek yerleştirilmesiyle sağlanmıştır. Ayrıca, ergin dişilerin yumurta bırakmaları için kavanozlara dibi nemli pamukla döşenmiş küçük petri kaplarından hazırlanan yumurtlama kapları yerleştirilmiştir. Böceklerin hem daha rahat hareket edebilmeleri hem de karanlıkta faaliyet gösterdikleri düşünülerek cam kavanozlar içine katlanmış kâğıtlar konmuştur.



Şekil 2.1. *M. desertus* kültür laboratuvarında çekirgelerin yaşam ortamı.

M. desertus dişilerinin yumurtlamalarının ergin olduktan sonra yaklaşık 40 gün devam ettiği bilinmektedir (Aydemir, 1999). Laboratuvar koşullarında 10-12 gün içinde yumurtadan çıkan nimfler dokuz ayrı nimfal evre sonrasında ergin hale gelmektedir. Ergin dişi ve erkek çekirgeler böcek fizyolojik suyu içinde, Olympus SZX7 stereomikroskop altında disekte edilip fotoğrafları çekilmiştir.

Histolojik alışmalar için Bouin sıvısında 24 saat tespit edilen Malpighi tüpçükleri %70 alkolde pikrik asitten arındırılıp etil alkol serilerinde dehidrasyon işlemine tabi tutulmuştur. Ardından ksilolde şeffaştırılarak total durumda parafin bloklara gömülen doku örneklerinden 4-5 m kalınlıktaki kesitler Mayer's Hematoxylin Eosin (HE) boyama tekniği ile boyanıp Olympus BX51 ışık mikroskopunda incelenmiş ve ALTRA 20 Soft Imaging System görüntülenmiştir.

Morfometrik analizler için rastgele seçilen preraratlarda 17 erkek örneğe ve 8 dişi örneğe ait kesit taranmıştır. Proksimal ve distal tübüllerde birbirine dik iki ekseninde olmak kaydıyla maksimum en ve boy mikrometrik oküler ile ölçülmüş, aynı işlem lümen en ve boyu için tekrarlanmıştır. İki tübülde de en az üçer hücre olmak kaydıyla epitel yüksekliği en geniş yerden ölçülerek tüm veriler SPSS istatistik programında değerlendirilmiştir. Metrik karakterler Student-T testine göre, tek meristik karakter olan hücre sayısı ise MannWithney-U testine göre analiz edilmiştir. İstatistik program çerçevesinde $p \leq 0.05$ değeri ile ifade edilen analiz sonuçları anlamlı farkı işaret etmektedir.

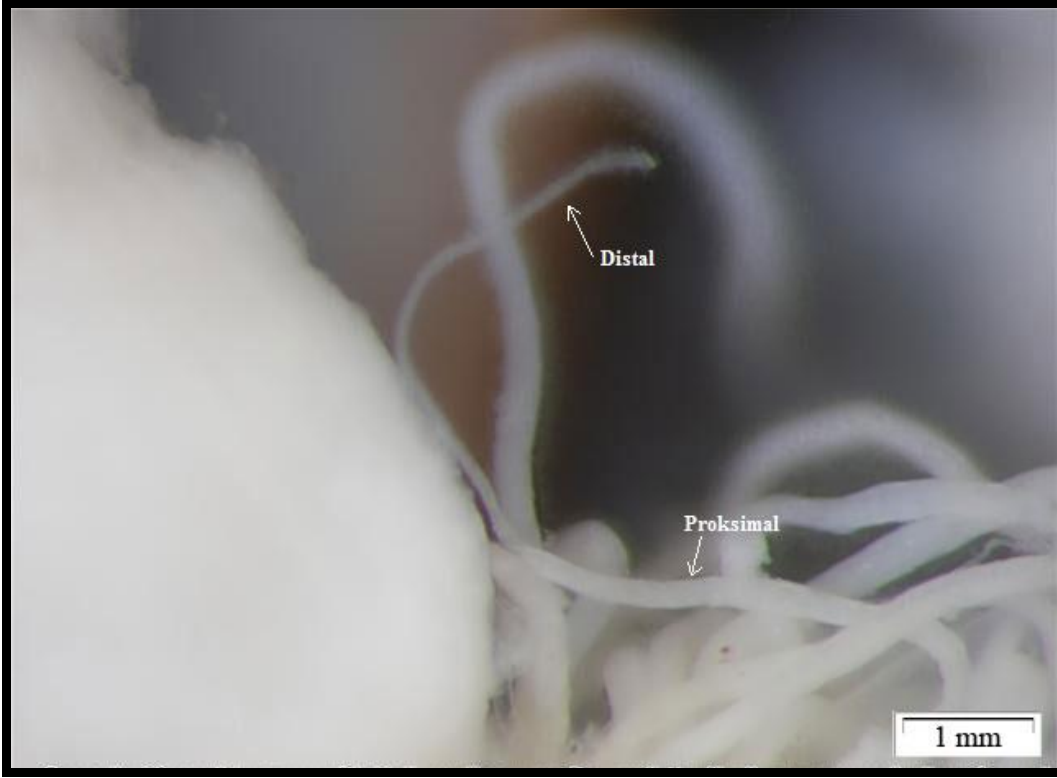
3. BULGULAR

3.1 Morfolojik Yapı

M. desertus'ta Malpighi tüpçükleri orta bağırsak ile son bağırsağın birleşme noktasında yer alırlar (Şekil 3.1.1). Dişi ve erkek bireylerde tüpçüklerin boy uzunlukları ve sayılarında farklılık vardır. Dişi bireylerde tüpçük boyları yaklaşık 8-11 mm arasında iken, erkek bireylerdeki boylar 7-9 mm olarak daha kısadır. Dişilerde yaklaşık 140–150 kadar Malpighi tüpçüğü bulunurken; erkeklerdeki sayıları 90–100 kadardır. Dişi ve erkek ayırt edilmeden 15 örnek üzerinde yalpan sayımlara göre Malpighi tüpçükleri sayısı 90-150 arasında değişmektedir. Her bir tüpçüğün kapalı ucu hemolenfte serbest olarak bulunmakta ve tüpçüklerin kalınlık farkına dayanılarak **proksimal** ve **distal** olarak iki bölgeye ayrıldığı kolayca anlaşılmaktadır (Şekil 3.1.2). Proksimal kısmı daha opak bir görünüme sahiptir; distal kısım ise şeffaftır (Şekil 3.1.3).



Şekil 3.1.1 *M. desertus*'un Malpighi tüpçükleri ve sindirim sisteminin genel görünüş.



Şekil 3.1.2 Malpighi tüpçüklerinin proksimal ve distal bölümleri.



Şekil 3.1.3. Tek bir Malpighi tüpçüğünün proksimal ve distal bölgeleri.

3.2 Histolojik Yapı

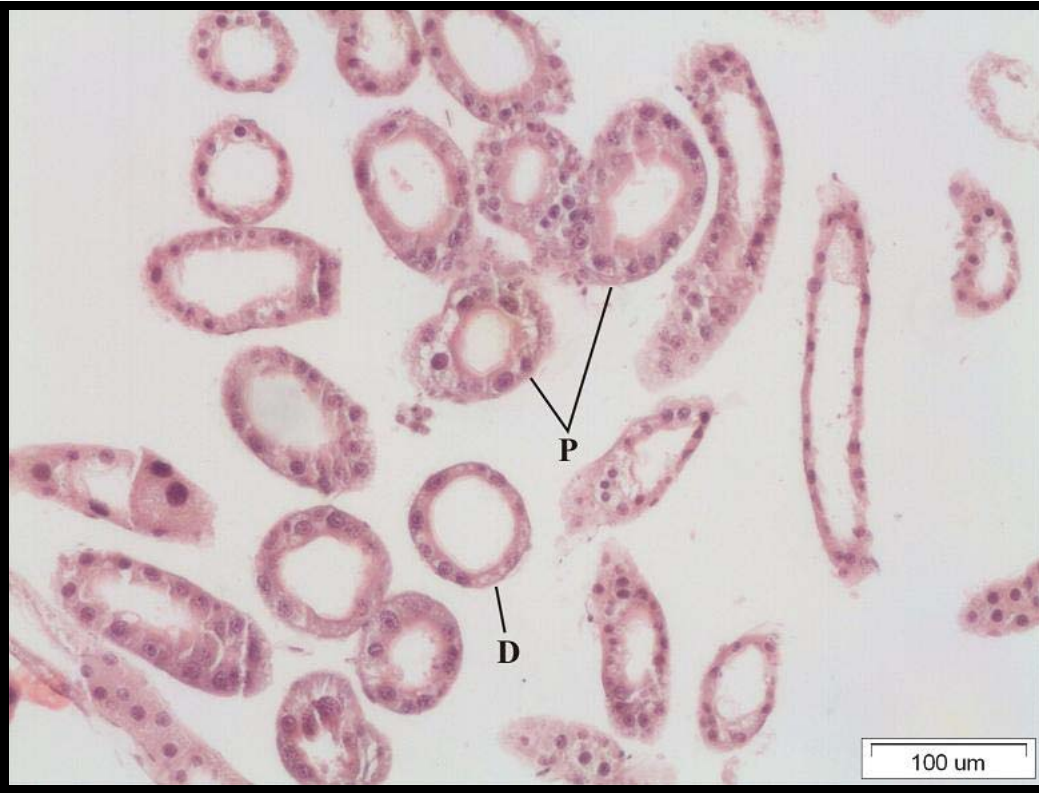
Histolojik kesitlerde tüpçüklerin orta bağırsakla son bağırsağın birleşim yeriyle bağlantıları izlenmektedir (Şekil 3.2.1). Tüpçüklerin proksimal ve distal bölgelerinin tek katlı kübik epitelden oluştuğu ve bölgeler arasında histolojik açıdan büyük bir fark olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.2.2). Proksimal tüpçüklerde yer yer izlenen proliferatif görünüm kıvrılmaya bağlı oryantasyondan kaynaklanmaktadır. Her iki bölgedeki hücrelerin lümeneye bakan kısımlarında siller rahatça izlenmektedir, fırçamsı kenar yapısı karakteristiktir (Şekil 3.2.3). Sillerin boyu, bölge ayırt etmeksizin ortalama 2,5 μm olarak ölçülmüştür.

Dişi ve erkek bireyler arasında genel histolojik yapıda bir fark gözlenmemiştir. Genel olarak proksimal bölgenin enine kesitlerinde hücrelerin epitel yüksekliği fazla, lümen küçüktür, distal bölgedeki hücrelerin epitel yüksekliği ise göreceli olarak daha az ve lümen daha geniştir (Şekil 3.2.4). Proksimal ve distal tüpçük epitel nükleuslarında bazı kesitlerde (Şekil 3.2.4) izlenen boyut farkı, aynı büyüklükteki mikrografların karşılaştırılmasından (Şekil 3.2.5 ve 3.2.6) anlaşıldığı üzere yanıltıcıdır. Proksimal ve distal bölgeler ayırt edilmeden yapılan ölçümlerde nükleusların ortalama 7,5 μm çapında oldukları saptanmıştır.

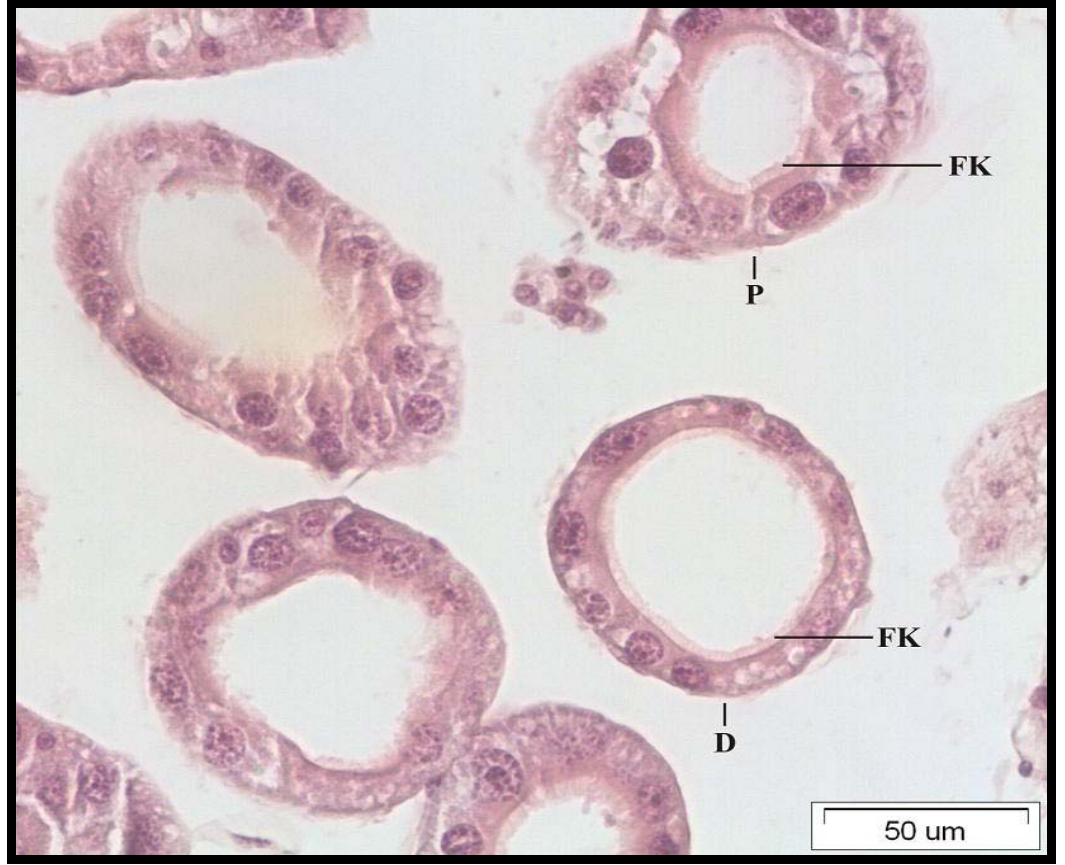
Hem proksimal hem de distal tüpçük hücrelerinde yer yer vakuoller izlenmektedir (Şekil 3.2.5; 3.2.6). Bu nedenle epitel hücre sınırlarını ayırt etmek zordur. Distal tüpçüklerde vakuol sayısı daha fazla görünmekte ve proksimal tüpçüklerle göre daha geniş vakuoller bulunmaktadır. Her iki tüpçüğün epitelinde de nükleus şekli ve sınırları kolayca ayırt edilmekte ve bazı nükleuslar çöküntülü biçimde izlenmektedir (Şekil 3.2.5; 3.2.6). Nükleuslarda kromatin materyal belirgindir.



Şekil 3.2.1 Malpighi tüpçüklerinin sindirim sisteminde orta ve son bağırsak birleşim yeriyle (B) bağlantıları.



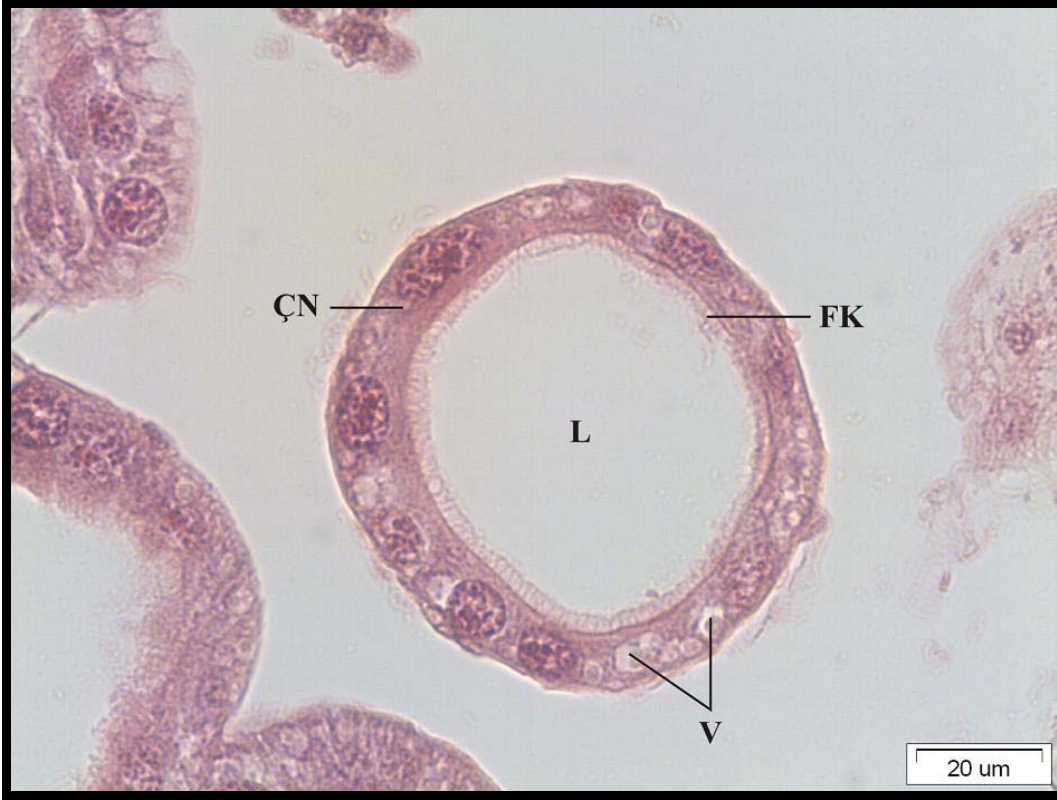
Şekil 3.2.2 Toplu halde gömülen Malpighi tüpçüklerinin enine kesitlerinden genel görünümü. P, proksimal; D, distal bölgeler.



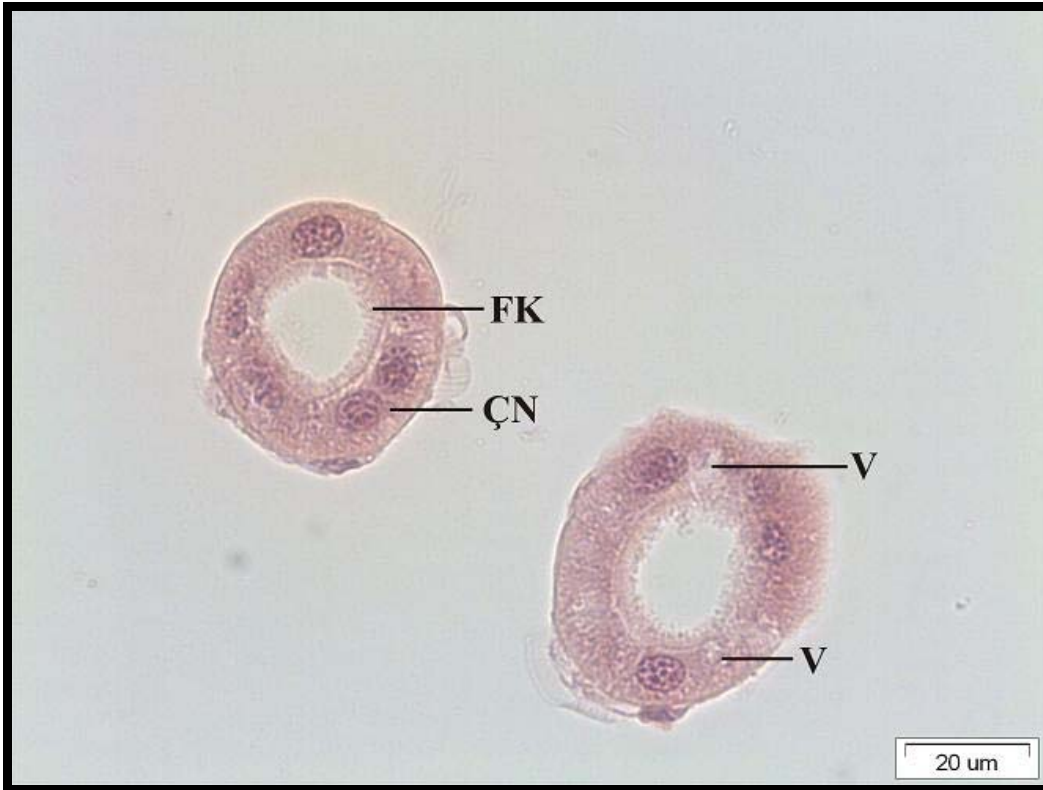
Şekil 3.2.3. Malpighi tüpüklerinin proksimal ve distal bölgelerden geçen enine kesit görüntüleri. P, proksimal; D, distal; FK, fırçamsı kenar



Şekil 3.2.4 Proksimal (P) ve distal (D) bölgelerden enine kesitler. Proksimalde daha yüksek epitel ile çevrili, daha dar lümen (L); distalde daha geniş lümeni çevreleyen ve göreceli olarak daha ince epitel.



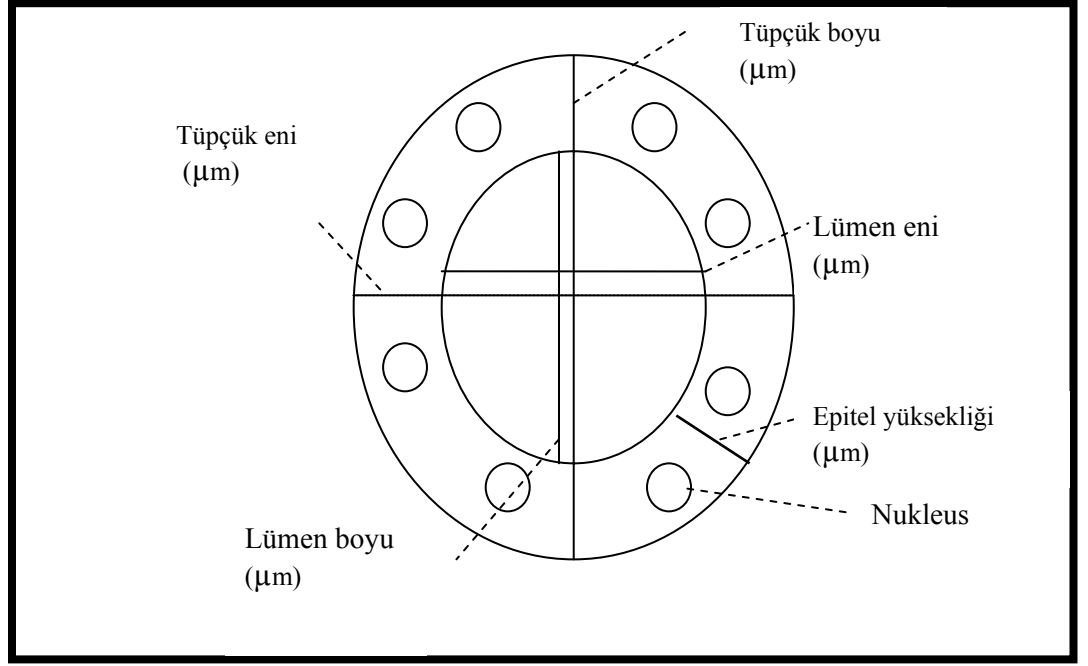
Şekil 3.2.5 Distal bölgeden enine kesitte çöküntü nukleus (ÇN), fırçası kenar (FK), sınırları ayırt edilemeyen epitel hücrelerinde vakuoller (V), lümen (L)



Şekil 3.2.6 Distal bölgeden enine kesitte fırçası kenar (FK), sınırları ayırt edilemeyen epitel hücrelerinde vakuoller (V), çöküntülü nukleus (ÇN)

3.3 Morfometrik Analizler

Ölçümlerde değerlendirilen başlıca morfometrik parametreler tüpçük en ve boyu, epitel yüksekliği, lümen en ve boyu ile (Şekil 3.3.1) hücre sayısıdır. Buna göre SPSS 17,0 istatistik programı ile yapılan özet istatistiklerde proksimal-distal değerler baz alınarak elde edilen veriler değerlendirilmiştir.



Şekil 3.3.1 Malpighi tüpçüklerinde yapılan morfometrik analizleri gösteren çizim

Çizelge 3.3.1. Malpighi tüpçüklerinin bazı morfometrik ölçümlerine dair özet istatistikler. Student-T testine göre metrik karakterlere; MannWithney-U testine göre ise meristik karakterlere ilişkin elde edilen istatistik değerler. N: örnek sayısı, SD: Standart sapma, SE: Standart hata; * anlamlı farklar.

Karakterler	Proksimal						P	Distal					
	N	Ort.	Min.	Max.	SD.	SE.		N	Ort.	Min.	Max.	SD.	SE.
Tüpçük eni	25	62,00	42,50	95,00	12,23	2,445	0,277	11	57,50	42,50	72,50	10,67	3,216
Tüpçük boyu	25	71,80	47,50	135,00	16,81	3,362	0,460	11	68,41	50,00	87,50	10,08	3,039
Epitel yüksekliği	25	15,50	12,50	25,00	4,68	0,935	0,000*	11	8,41	7,50	10,00	1,26	0,380
Lümen eni	25	31,00	17,50	50,00	8,32	1,665	0,013*	11	40,68	27,50	57,50	10,13	3,054
Lümen boyu	25	38,80	22,50	65,00	9,85	1,969	0,001*	11	52,50	35,00	67,50	9,29	2,800
Hücre sayısı	11	7,55	4,00	11,00	2,42	0,731	0,404	8	6,63	4,00	11,00	2,45	0,865

Çizelge 3.3.1’de izlendiği üzere, proksimal ve distal bölgedeki Malpighi tüpçüklerinin ve en ve boyları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$) Benzer biçimde, her iki bölgedeki tüpçüklerin hücre sayıları arasında da fark görülmemiştir ($p>0,05$). Ancak iki bölgeye ait epitel yükseklikleri farklıdır ($p\leq 0,05$). Benzer biçimde lümen en ve boyları açısından da anlamlı fark olduğu görölmüştür ($p\leq 0,05$).

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Böceklerin büyük bir kısmının boşaltım organı olan Malpighi tüpçükleri, böcek gruplarında farklılık gösterse de temel yapısal özellikleri benzerdir. *Melanogryllus desertus*'un Malpighi tüpçükleri de genel anlamda diğer böceklerinki ile benzerlik gösterir.

4.1 Morfolojik Yapı

Beams vd. (1955) *M. differentialis differentialis* ile yaptıkları çalışmada Malpighi tüpçüklerinin sayısını 200–300 olarak kaydederken, Satmary ve Bradley'in (1984) *R. prolixus* ve Ainsworth vd.'nin de (2000) *D. melanogaster* ile yaptıkları çalışmalarda Malpighi tüpçükleri sayısı sadece dört olarak verilmektedir. Bunun yanısıra Arab ve Caetano (2002) ateş karıncası *S. saevissima* Malpighi tüpçüklerinin sadece altı adet olduğunu kaydetmişlerdir. Sunulan araştırmada *Melanogryllus desertus*'da 90-150 arasında Malpighi tüpçüğü sayılmıştır. Türlerle göre büyük değişkenlik gösteren sayı ile böceklerin yaşam ortamları ve beslenme biçimleri arasında önemli bazı bağlantılar olduğu düşünülmektedir.

Farklı türlerde yapılan araştırmalarda Malpighi tüpçüklerinin değişik bölgelere ayrılarak incelendiği bilinmektedir. Beams vd. (1955) *M. differentialis differentialis* türünde tüpçükleri bazal, intermediyal ve apikal zon olarak üç bölgeye ayırmıştır.

Satmary ve Bradley (1984), *R. prolixus*'da Malpighi tüpçüklerinin her birini yukarı ve aşağı olarak iki bölgeye ayırmışlardır. Dow vd. (1998) de *Drosophila melanogaster*'de ve Kerber vd. (1998) de *Drosophila*'da Malpighi tüplerinde iki bölge olduğunu kaydetmişlerdir. Arab ve Caetano (2002) ateş karıncası *S. saevissima* Malpighi tüpçüklerinin proksimal, orta ve distal olmak üzere üç segmentten oluştuklarını göstermişlerdir.

Sunulan çalışmada *M. desertus*'da da iki bölge ayırt edilerek proksimal ve distal olarak tanımlanmıştır. Bu tez çalışmasındaki proksimal bölgenin *M.*

differentialis differentialis'deki bazal bölgeye, *R. prolixus*'da da aşağı bölgelere eşdeğer oldukları düşünülmektedir.

Kerber vd.(1998) tarafından *Drosophila*'da, Beams vd. (1955) tarafından *M. differentialis differentialis*'te gösterildiği gibi, *M. desertus*'ta da tüpçükler hemolenfte serbest olarak bulunurken pek çok Coleoptera ve Lepidoptera üyelerinde, rektum duvarında sonlanan, serbest bulunmayan kriptonefridik tüpler yer alır.

4.2 Histolojik Yapı

M. desertus'un Malpighi tüpçüklerinin enine kesitlerinde proksimal-distal ayırt etmeksizin 4-11 hücre gözlenirken, Beams vd.'nin yaptıkları çalışmada (1955) *Melanophus differentialis differentialis*'te 4-6 hücre kaydedilmiştir. Hücreler, tek katlı kübik epitel hücreleridir ve yapıları diğer türlerde rapor edilenlere (Roeder and College, 1953; Nation, 2002) genel olarak benzerlik gösterir. Satmary ve Bradley'in (1984) *R. prolixus*'ta gösterdikleri gibi primer ve yıldızlı hücreler ayrımı, ışık mikroskobu çalışması olduğu için *M. desertus*'ta yapılamamıştır. Fırçamsı kenar yapısı, Wigglesworth (1965) tarafından bildirilen yapıya benzerdir. Ancak bu araştırmacının belirlediği peteksi-fırçamsı kenar ayrımı *M. desertus*'da izlenmemiştir.

Beams vd. (1955) *M. differentialis differentialis*'de fırçamsı kenarın yaklaşık 3-4 µm uzunluğunda olduğunu rapor etmişlerdir Çalışmamızda fırçamsı kenar uzunluğu bölgelere göre değişmemek kaydıyla 2.5 µm olarak ölçülmüştür.

Satmary ve Bradley (1984), *R. prolixus* Malpighi tüplerinde ayırt edilen iki bölgede iki farklı hücre tipinin bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu hücrelerin ayrıca görevlerinin de farklı olduğunu öne süren araştırmacılara göre, alt tüpçük hücreleri ürik asidi ya da KCl'yi salgılamak, üst tüpçük hücreleri de üriner sıvıyı salgılamaktadır. *M. desertus* ile yaptığımız çalışmada farklı hücre tiplerine rastlanmamıştır. Roeder ve College (1953) de Orthoptera üyelerinde distal ve proksimal bölgelerde hücre farklılığı olmadığını bildirilmişlerdir. Orthoptera ordosuna ait bir tür olan *M. desertus*'ta da proksimal ve distal bölgelerdeki hücreler arasında fark bulunmaması, bu genel bilgiye uygundur. Her iki bölgede

fırça kenar yapısının varlığı, lümende madde hareketi ve geçişinde kolaylık sağlayan bir yapılaşma olarak değerlendirilmiştir.

Dow vd.(1998) *Drosophila melanogaster* ile yaptıkları çalışmada sadece 2 mm uzunluğunda olan tüpçük epitelinin 150'den az sayıda hücreye sahip olduğunu kaydederek, bir tüpçüğün altı alt bölgeye ve hücre tipine sahip olduğunu da rapor etmişlerdir. Sunulan çalışmada ise *M. desertus*'da yaklaşık 1cm boyunda olan tüpçüklerin sadece iki bölgeye ayrıldığını ve farklı hücre tiplerine sahip olmadığını gözlemledik. Hücrelerdeki vakuolar oluşumlar Beams vd. (1955) tarafından rapor edilenlere benzerdir.

4.3 Morfometrik Analizler

Sunulan çalışmada elde edilen istatistiksel verilere göre, proksimal ve distal bölgelerde Malpighi tüpçüklerinin en ve boyları ile hücre sayıları arasında fark yokken ($p>0,05$), iki bölgedeki tüpçüklerin epitel yükseklikleri ile lümen en ve boyları açısından anlamlı fark bulunmaktadır ($p\leq 0,05$). Mevcut literatürde istatistiksel olarak değerlendirilip değerlendirilmediği bildirilmemekle beraber, farklı türlerde değişik bölgelerden alınan ölçümler verilmektedir. Örneğin Beams vd. (1955) *M. differentialis differentialis* ile yaptıkları çalışmada, Malpighi tüpçüklerinin bazal zondaki çaplarını 25–150 μm olarak vermektedirler. Bu sayısal değerlerin geniş bir değişkenlik gösterdiği ortadır. Sözkonusu araştırmacıların bazal bölge ayrımının, sunulan tezde proksimal bölgeye karşılık geldiği düşünülse bile, herhangi bir karşılaştırma bu nedenle yapılamaz. Benzer biçimde, Dow vd. (1998) tarafından *D. melanogaster*'de Malpighi tüpçüklerinin çap değeri olarak verilen 35 μm değerinin de, herhangi bir karşılaştırmaya alınamayacağı düşünülmüştür. Çünkü sunulan tezde birbirine dik iki eksenle olmak kaydıyla maksimum en ve boy ölçülmüşken, bu araştırmacılar çap ölçümünü nasıl yaptıkları kaydedilmemektedir.

Proksimal ve distal bölgedeki Malpighi tüpçüklerinin epitel yüksekliklerinde izlenen ve istatistiksel olarak anlamlı olan ($p\leq 0,05$) farklılık, histolojik gözlemlerimize uygun bir bulgudur. Bu yapısal farkın işlevsel bir farka

işaret edip etmediği, ancak daha gelişmiş teknikler kullanılarak yapılacak araştırmalarla, daha ileride belirlenebilecektir.

M. desertus'un Malpighi tüpçüklerinin morfolojik ve histolojik yapısının ortaya konmaya çalışılarak bazı morfometrik analizlerin de değerlendirildiği bu araştırmanın, konuyla ilgili olarak farklı yöntemlerle yapılacak başka araştırmalara temel oluşturabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Ainsworth, C., Wan, S., Skaer, H.,** 2000, Coordinating cell fate and morphogenesis in *Drosophila* renal tubules. *Philos. Trans. R Soc. Lond. B Biol. Sci.* July 29; 355(1399): 931–937.
- Arap, A., Caetario, F., H.,** 2002, Segmental specialization in the Malpighian tubules of the fire ant *Solenopsis saevissima* Forel 1904 (Myrmicinae): an electron microscopial study, *Arthropod Struct. Develop*, 30(4), 281-292.
- Aydemir, E. M. Z.,** 1999, *Melanogryllus desertus* Pallas (Orthoptera: Gryllidae)’un Ventral Sinir Kordonu Ganglionlarındaki Nörosekresyon Hücreleri, Yüksek Lisans Tezi, 52 sayfa, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Beams, H. W., Tahmisian, T. N., Devine, R. L.,** 1955, Electron microscope studies on the cells of the Malpighian tubules of the grasshopper (Orthoptera, Arcididae), *Biophysic. Biochem. Cytol.*, 1(3).197-243
- Çakıcı, Ö.,** 2008, *Melanogryllus desertus* Pallas (Orthoptera: Gryllidae)’un Sindirim Sisteminde Histolojik ve Ultrastrüktürel Araştırmalar, Doktora Tezi, 95 sayfa. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (yayımlanmamış).
- Dow, J. A. T., Davies, S. A., Sözen, M. A.,** 1998, Fluid secretion by the *Drosophila* Malpighian tubule, *Amer. Zool.* 38(3): 450-460
- Gümüşsuyu, İ.,** 1973, Orta Anadolu bölgesinde kültür bitkilerine zarar yapan karaçekirge (*Melanogryllus desertus* Pall.)’nin (Orthoptera: Gryllidae) biyo-ekolojisi üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi. 93 sayfa. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi.
- Harvey, W. R. and Nedergaard, S.,** 1964, Sodium-independent active transport of potassium in the isolated midgut of the *Cecropia* silkworm, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* May; 51(5): 757–765.
- Hoch M., Jackle H.,** 1998, *Krüppel* acts as developmental switch gene that mediates Notch signalling-dependent tip cell differentiation in the excretoryorgans of *Drosophila*, *EMBO J.* 17(19), 5766-5775.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kerber B., Fellert S., Hoch M.,** 1998, Seven-up, the *Drosophila* homolog of the COUP-TF orphan receptors, controls cell proliferation in the insect kidney, *Genes & Develop.* 12, 1781-1786.
- Liu, X., Kiss, I., Lengyel, J. A,** 1999, Identification of genes control Malpighian tubules and other epithelial morphogenesis in *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, 151, February, 685-695.
- Maddrell, S. H. P. and Gardiner, B. O. C.,** 1974, The passive permeability of insect Malpighian tubules to organic solutes , *Exp. Biol.*, 60, Great Britain, 641 – 653p.
- Nation, J. L.,** 2002, *Insect Physiology and Biochemistry*, CRC Press, New York, 485p.
- Roeder, K. D., College, T.,** 1953, *Insect Physiology*, Chapman&Hall Ltd, London, 387-407p.
- Satmary, W. M., Bradley, T. J.,** 1984, Dissociation of insect Malpighian tubules into single, viable cells, *J. Cell Sci.*, 72, California, USA, 101– 109p.
- Savage, A. A.,** 1962, The development of the Malpighian tubules of *Carausius morosus* (Orthoptera), *Quart. J. Micr. Sci.*, Vol, 103, pt. 4, 417 – 37.
- Singh R. S., Hou S. X.,** 2009, Multipotent stem cells in the Malpighian tubules of adult *Drosophila* , *J. Exp. Biology*, 212: 413-423.
- Wigglesworth, V. B.,** 1965, *The Principles of Insect Physiology*, Butler & Tanner Ltd, London, 741p.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında İzmir’de doğan Gizem Acar, ilköğretim ve lise öğrenimini İzmir’in Çeşme ilçesinde tamamladı. 2001 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümüne giren Gizem Acar, Yabancı Diller Bölümünde 1 yıl İngilizce hazırlık okuduktan sonra 2006 yılında Biyoloji bölümünden mezun oldu. Aynı yıl Fen Bilimleri Enstitüsünün açtığı Yüksek Lisans sınavlarını kazanarak Biyoloji Bölümünde Yüksek lisans eğitimine başladı.