

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

***CULEX PIPIENS*'TE FAT BODY HÜCRELERİNİN
FARKLI HİSTOKİMYASAL TEKNİKLER
KULLANILARAK GÖSTERİLMESİ**

Mehtap GÜLMEZ

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Gamze TURGAY İZZETOĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 04.09.2018

Bornova-İZMİR

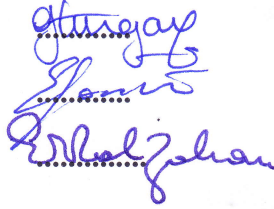
2018

Mehtap GÜLMEZ tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “*Culex pipiens*’te Fat Body Hücrelerinin Farklı Histokimyasal Teknikler Kullanılarak Gösterilmesi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve **04.09.2018** tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

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





EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

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

04 / 09 / 2018

İmzası



Adı-Soyadı

Mehtap GÜLMEZ



ÖZET

CULEX PIFIENS'TE FAT BODY HÜCRELERİNİN FARKLI HİSTOKİMYASAL TEKNİKLER KULLANILARAK GÖSTERİLMESİ

GÜLMEZ, Mehtap

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Gamze TURGAY İZZETOĞLU

Eylül 2018, 50 sayfa

Fat body, böceklerde bir veya iki hücre kalınlığındaki ince tabakadan oluşan mezodermal orijinli, biyosentetik ve metabolik aktiviteye sahip olan yapıdır. Fat body böcekler için bir endokrin organ olup, omurgalılarıdaki karaciğere eşdeğer olduğu bilinmektedir. Bu çalışma ile insanlarda birçok bulaşıcı hastalığın sebebi olan sivrisinek *Culex pipiens*'in larva, pupa ve erginlerine ait fat body'lerin histolojik yapısı ilk kez belirlenmiştir. Farklı tespit solüsyonları ve çeşitli spesifik histokimyasal boyama yöntemleri kullanılarak fat body'nin yapısı, hücre tipleri ve bu hücrelerin içerikleri gösterilmiştir. Fat body'a ait hücreler, bazı bölgelerinde bir veya iki sıra halinde, bazı bölgelerinde ise gruplar halinde belirlenmiştir. Farklı boyalarla boyanmış kesitlerde fat body dokusundaki hücreler ayrıntılı bir şekilde gösterilmiştir. Bu hücrelerden en çok bulunanları trofositler ve fat body ile ilişkili olan önositlerdir. Fat body hücrelerinin dağılımı ve içeriklerin hangi evrelerde ve hayvanın hangi bölgelerinde yoğunlaştığını bilmek, onun fizyolojisiyle ilgili olayları anlamada oldukça önem kazanacaktır.

Anahtar sözcükler: *Culex pipiens*, fat body, histokimya



ABSTRACT

DEMONSTRATION OF FAT BODY CELLS IN CULEX PIPIENS USING DIFFERENT HISTOCHEMICAL TECHNIQUES

GÜLMEZ, Mehtap

MSc in Biology

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Gamze TURGAY İZZETOĞLU

September 2018, 50 pages

Fat body is a mesodermal originated tissue which possess biosynthetic and metabolic activity and composed of thin layer of one or two cell thickness in insects. Fat body is an endocrine organ for the insects and known that it is equivalent to the liver in vertebrates. In this research, its structure is determined the first time in larvae, pupae and adults of mosquito *Culex pipiens*, causing many contagious diseases in humans. The structure, cell types and their contents of fat body are shown by using different fixative solutions and various specific histochemical staining methods. The cells of the fat body are one-two lines in some regions, while the others in groups. In the differently stained sections, the cells in the fat body tissue are shown in detail. The most common of these cells are trophocytes and oenocytes which associated with the fat body. Knowing the distribution of the fat body cells and the contents at which stages and in which regions of the animal will be of considerable importance for understanding its physiological process.

Keywords: *Culex pipiens*, fat body, histochemistry.

TEŞEKKÜR

Öncelikle bu çalışmanın yürütülmesi sırasında kıymetli bilgilerini benimle paylaşan, her zaman sabır ve anlayışla beni dinleyip yönlendiren, çalışma konusuyla ilgili benimle birlikte araştırıp okuyan, her daim ilgilenen, hayatımın en zor zamanlarında ve de bütün laboratuvar çalışmalarım boyunca geç saatlere kadar benimle birlikte olan, desteğini her zaman hissettiğim, bana bir danışmandan çok bir abla, yeri geldiğinde de bir anne gibi hissettiren, güler yüzünü ve elinden gelen yardımı her zaman insan ayırt etmeksizin tüm öğrencilerine gösteren sevgili hocam Dr. Öğretim Üyesi Gamze TURGAY İZZETOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Yine çalışmamda bana materyal, kaynak ve yöntem oluşturma açısından sürekli yardım edip fikirler vererek destek olan, çalışmada aksilikler çıkıp en başa dönmem gereken her anda ve her umutsuzluğa kapıldığım anda bu konuyla ilgili deneyimlerini ve değerli bilgilerini sabırla bir abi gibi benimle paylaşan, yol gösteren, çok sevdiğim hocam Dr. M. Salih YIKILMAZ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca kendisine fikir danıştığım ve çeşitli konularda yeni fikirler ürettiğimiz, bana her zaman bir abi gibi yol gösteren, değerli bilgilerini ve deneyimlerini benimle paylaşan, çalışmaya farklı açılardan bakıp değerlendirmemde katkısı olan, yüksek enerjisiyle sürekli moral ve motivasyon veren çok kıymetli hocam Doç. Dr. Savaş İZZETOĞLU'na da teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca bölümümüzün tüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Başkanı Prof. Dr. Ferah SAYIM ÖZKAN'a, Zooloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Dinçer Ayaz'a ve 18 FEN 021 nolu projeye maddi desteği için EÜ. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Histoloji için önemli yer tutan fotoğraflama işlemi gerçekleştirebildiğim Zeiss Axio Scope A1 marka mikroskobu kullanabilmem konusunda yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Nurşen ALPAGUT KESKİN'e ve Zooloji Anabilim Dalımız laboratuvarlarından Böcek Fizyolojisi Araştırma Laboratuvarı'nın olanaklarından (kriyostat ve soğutucu) yararlanmamı sağlayan Doç. Dr. N. Ebru GÖNCÜ'ye teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımnda bana yardım ve destekleri için Leyla ACAR, Tuęba ZÜLFİKAROğLU ve Asiye PAK'a, ayrıca çalışmam boyunca her koşulda yanımda olan, bana olan desteklerini her zaman hissettiğim, her zorluğu birlikte aşmaya çalıştığımız, kimi zaman laboratuvar çalışmalarıma dahi yardım eden çok kıymetli arkadaşlarım, Hüseyin EVLAT ve Gizem DÖNER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak beni bu zamana kadar yetiştirip büyüten, maddi ve manevi desteklerini bir an bile esirgemeyen, aramızda uzun mesafeler olsa da bana kalben, ruhen her zaman yanımda olduklarını hissettiren, inanan, güvenen, düştüğümde kalkmayı, pes etmemeyi öğreten, bu çalışmayı bitirmemde beni teşvik eden, her zaman moral veren anneme ve babama çok teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xix
1.GİRİŞ	1
2.MATERYAL VE METOT	10
2.1 Hayvan Eldesi ve Yetiştirilmesi	10
2.2 Histolojik İnceleme.....	10
2.2.1 Genel yapı için boya metotları	11
2.2.2 Makromoleküller için boya metotları	12
3.BULGULAR.....	16
3.1 Genel Bulgular	16
3.2 Makromoleküler Bulgular	32
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	39
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	44

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

ÖZGEÇMİŞ.....50



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 <i>Culex pipiens</i> 'e ait hayat döngüsü.....	2
3.1 Farklı evrelerde baş bölgelerinin histolojik görünümü	17
3.2 <i>Culex pipiens</i> 'in 4. larval evresinin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Mayer's Hematoksilen-Eozin boyasıyla gösterimi.....	18
3.3 <i>Culex pipiens</i> 'in erken pupa evresinin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Mayer's Hematoksilen Eozin Boyasıyla gösterimi.....	20
3.4 <i>Culex pipiens</i> 'in geç pupa evresinin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Mayer's Hematoksilen Eozin Boyasıyla gösterimi.....	21
3.5 Erginin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Mayer's Hematoksilen-Eozin boyasıyla gösterimi.	23
3.6 <i>C. pipiens</i> 'in 4. larval evresinin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Pollak's trikrom boyasıyla gösterimi.....	24
3.7 <i>C. pipiens</i> 'in erken pupa evresinin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Pollak's trikrom boyasıyla gösterimi	24
3.8 <i>C. pipiens</i> 'in geç pupa evresinin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Pollak's trikrom boyasıyla gösterimi.....	25
3.9 <i>C. pipiens</i> 'in ergin bireylerinin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Pollak's trikrom boyasıyla gösterimi.....	25
3.10 <i>C. pipiens</i> 'in 4. larval evresinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki karbonhidrat içeriğinin PAS boyasıyla gösterimi.....	26
3.11 <i>C. pipiens</i> 'in erken pupa evresinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki karbonhidrat içeriğinin PAS boyasıyla gösterimi.....	26

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.12 <i>C. pipiens</i> 'in geç pupa evresinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki karbonhidrat içeriğinin PAS boyasıyla gösterimi.....	27
3.13 <i>C. pipiens</i> 'in ergin bireylerinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki karbonhidrat içeriğinin PAS boyasıyla gösterimi.....	27
3.14 <i>C. pipiens</i> 'in 4. larval evresinin farklı bölgelerinde trofositlere ait protein granüllerinin merkürük bromofenol mavisi boyası ile gösterimi.....	28
3.15 <i>C. pipiens</i> 'in erken pupa evresinin farklı bölgelerinde trofositlere ait protein granüllerinin merkürük bromofenol mavisi boyası ile gösterimi.....	28
3.16 <i>C. pipiens</i> 'in geç pupa evresinin farklı bölgelerinde trofositlere ait protein granüllerinin merkürük bromofenol mavisi boyası ile gösterimi.....	29
3.17 <i>C. pipiens</i> 'in ergin bireylerinin farklı bölgelerinde trofositlere ait protein granüllerinin merkürük bromofenol mavisi boyasıyla gösterimi.....	29
3.18 <i>C. pipiens</i> 'in 4. larval evresinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki yağ damlacıklarının Sudan black B boyasıyla gösterimi.....	30
3.19 <i>C. pipiens</i> 'in erken pupa evresinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki yağ damlacıklarının Sudan black B boyasıyla gösterimi.....	30
3.20 <i>C. pipiens</i> 'in geç pupa evresinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki yağ damlacıklarının Sudan black B boyasıyla gösterimi.....	31
3.21 <i>C. pipiens</i> 'in ergin bireylerinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki yağ damlacıklarının Sudan black B boyasıyla gösterimi.....	31
3.22 <i>C. pipiens</i> 'in larva evresinin toraks bölgesinde trofosit dağılımının farklı boyalarla gösterilmesi.....	33

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.23 <i>C. pipiens</i> 'in erken pupa evresinin sefalotoraks bölgesinde trofosit dağılımının farklı boyalarla gösterilmesi.....	34
3.24 <i>C. pipiens</i> 'in geç pupa evresinin abdomenin son bölgesinde trofosit dağılımının farklı boyalarla gösterilmesi.....	35
3.25 Ergin dişide abdomenin son bölgesinde trofosit dağılımının farklı boyalarla gösterilmesi.....	36
3.26 Ergin erkekte abdomenin son bölgesinde trofosit dağılımının farklı boyalarla gösterilmesi.....	37
3.27 <i>C. pipiens</i> 'in farklı evre ve bölgelerindeki önositlerin görünümü.	38



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge

Sayfa

2.1 Kullanılan fiksatifler ve yıkama solüsyonları 10



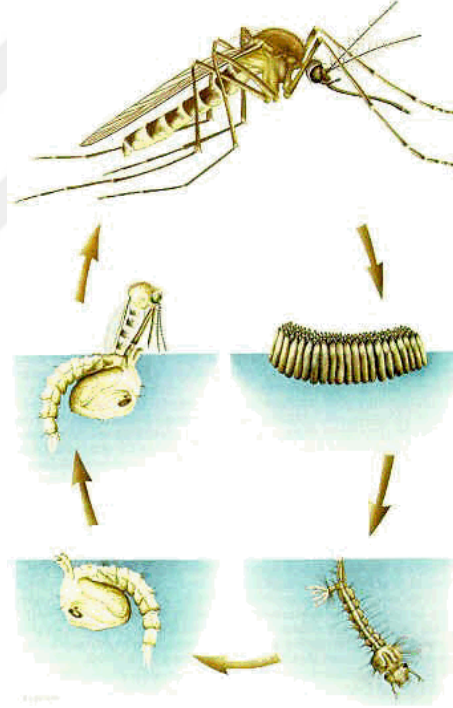


1. GİRİŞ

Yaygın ismiyle ev sivrisineği olarak bilinen *Culex pipiens*, Arthropoda (Eklem Bacaklılar) şubesi, Insecta (Böcekler) sınıfı, Diptera (İki Kanatlılar) takımı ve Culicidae (Sivrisinekler) ailesi içerisinde yer almaktadır (Clements, 2000; Gillott, 2005; Becker et al., 2010). *Culex pipiens*, ilk kez Linne tarafından tanımlanıp, Systema Naturae (1758) adlı eserinin 10. baskısında yayınlanmıştır (Harbach, 2012). Antarktika dışında, kuzey ve güney yarım kürelerdeki ılıman bölgelerde dağılışı göstermektedir (Harbach, 2008; Integrated Taxonomic Information System, 2018; Animal Diversity Web, 2018; UniProt, 2018; Mosquito Taxonomy Inventory, 2018). Dünyada kentsel ortamlardaki en yaygın sivrisinektir ve genellikle kirli, içi su dolu küçük kaplarda, septik sistemlerde ve kirli akarsularda üreyip çoğalmaktadır (Chapman, 2013; Encyclopedia of Life, 2018).

Culex pipiens holometabol bir böcek olup, yaşam döngüsü yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere 4 evrede tamamlanmaktadır (Clements, 2000; Gillott, 2005; Becker et al., 2010; Chapman, 2013; The American Mosquito Control Association, 2018; University of Florida, 2018). Dişi ve erkek çiftleştikten sonra yumurtalar *Culex*, *Culiseta* ve *Anopheles* türlerinde direkt su yüzeyine bırakılırken, *Aedes* türlerinde yumurtalar suya yakın nemli toprağa bırakılırlar ve ilk su taşkınyla birlikte yumurtalar açılmak üzere suyla buluşmaktadırlar (Clements, 2000). Sivrisinekler, bir defada yaklaşık 200 kadar yumurta bırakabilmektedir (Clements, 2000; Becker et al., 2010; The American Mosquito Control Association, 2018). Çoğu yumurta yaklaşık 48 saat içinde açılarak larval dönem başlamaktadır. Sivrisineklerin larval evresi tamamen suda geçmektedir. Larvaların bacakları yoktur ve suyun içinde yüzme hareketini gerçekleştirmektedirler (Clements, 2000; University of Florida, 2018; Mosquito Taxonomy Inventory, 2018). Larvalar üç kere deri değiştirip her deri değişiminden sonra büyümektedirler. Sudan filtre edilen organik maddeler ve mikroorganizmalar ile beslenmektedirler. *Anofel* türlerinin aksine *Culex* türlerinin larvalarında, sifon ismi verilen tüp şeklinde yapılar vardır, bunlar larvanın su içindeyken nefes almasını sağlayıp şinorkel gibi görev yapmaktadır. Bu yüzden su yüzeyindeki duruşları baş aşağı şeklindedir. Larvalar 4. instarın sonuna doğru beslenmeyi durdurup, pupa aşamasına geçmektedirler (Clements, 2000; Gillott, 2005; The American Mosquito Control Association, 2018; University of Florida, 2018). Sivrisineklerin pupa aşaması da suda geçmektedir. Pupanın vücudu 2 kısımdan oluşmaktadır; sefalotoraks (baş ve toraks) ve abdomen (Clements, 2000; Gillott, 2005; University of Florida, 2018). Pupanın görünüşü virgüle benzemektedir ve çoğu zaman su yüzeyinde asılı halde

bulunmaktadır. Bu evrede beslenme gözlenmemektedir, fakat sivrisineklerin pupaları diğer böcek gruplarının aksine hareket edebilmektedir. Bu hareket ışık değişimlerine tepki verme şeklinde olup, abdomenini alt taraflara doğru çevirerek hareket ettirme şeklindedir (The American Mosquito Control Association, 2018; University of Florida, 2018). Pupadan yeni ergin hale geçen bireyler vücutlarının kuruması ve vücut parçalarının sertlik kazanması için kısa bir süre su yüzeyinde beklemektedirler. Uçmak için kanatların yayılması ve düzgün bir şekilde kuruması gerekmektedir. Ergin dişi ve erkekler genellikle yumuşak bitkilerin ve meyvelerin özsuyunu emerek beslenmektedirler. Ancak bazı türler hariç dişiler, yumurta bırakabilmek için mutlaka kan ile de beslenmek zorundadır. Bu türlere otojenik türler denilmektedir. Otojeni durumu ilk kez *C. pipiens*'te tanımlanmıştır. Basitçe, dişilerin pupadan çıktıktan sonra kan emmeden en fazla bir kez yumurta bırakabilmeleri durumuna otojeni ismi verilmektedir (Clements, 2000; Strickman and Fonseca, 2012).



Şekil 1.1. *Culex pipiens*'e ait hayat döngüsü (Papamoa Pines Medical Centre, 2018).

Culex pipiens son zamanlarda dünyadaki en yaygın sivrisinek türü olarak tanımlanmaktadır. *Culex* cinsine ait dişiler, insan sağlığı açısından büyük öneme sahip olup, fil hastalığı olarak bilinen lymphatic filariasis'e yol açan *Wucheria bancrofti* parazitinin, St. Louis, West Nile, Estern equine, Venezuelan equine ve Japanese ensefalitleri ile Sindbidis ve Rift Valley ateşi hastalığına sebep olan bir

dizi arbovirüsün vektörü olarak bilinmektedir (Nazni et al., 2005; Harstone et al., 2007; Norris and Norris, 2011; Becker et al., 2012; Turell, 2012; Zhao et al., 2014; Scott et al., 2015, Yuan et al., 2015; Taskin et al., 2016). Bu tür hastalıklara sebep olan bu canlıyla mücadele edebilmek için onu iyi tanıyıp özellikle fizyolojisini çok iyi bilmek gerekmektedir. Böceklerde neredeyse tüm fizyolojik olaylardan sorumlu olan fat body bu noktada önem kazanmaktadır. Bu önemine rağmen, fat body'nin sivrisineklerdeki morfofizyolojisi gibi konular az araştırılmıştır. Bu nedenle çeşitli sivrisinek vektörlerini kapsayan türlerin, fat body ile ilgili araştırmalara konu olmasının bu tür bilgi boşluklarının doldurulmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Fat body genellikle birkaç hücre kalınlığındaki ince tabakalardan ya da şeritlerden oluşan bir doku olarak tanımlanmaktadır. Mezodermal orijinli olup, büyük bir biyosentetik aktiviteye sahiptir (Resh and Cardé, 2009; Roma et al., 2010; Arrese and Soulages, 2010; Chapman, 2013; Klowden, 2013, Alves de Assis et al., 2014). Genellikle abdomende yoğun şekilde bulunmasına rağmen vücut boşluğu boyunca dağılışı göstermektedir (Gillott, 2005; Resh and Cardé, 2009; Chapman, 2013; Klowden, 2013; Alves de Assis et al., 2014). Fat body, trake sistemi, kas sistemi, Malpighi tüpleri ve hemolenf gibi bütün vital doku ve organlarla yakından ilişkilidir (Nation, 2008; Resh and Cardé, 2009). Bazı holometabol böceklerde vücut boşluğunda bulunduğu konuma göre periferal (subkütikular) fat body ve perivisseral (visseral) fat body olarak ikiye ayrılmaktadır. Periferal fat body'nin depolama fonksiyonu olup, integümentin hemen altında ve kas sisteminin yakınlarında bulunurken, perivisseral fat body organları, özellikle de sindirim kanalını çevrelemektedir (Haunerland and Shirk, 1995; Martins and Pimenta, 2008; Roma et al., 2010; Martins et al., 2011; Chapman, 2013; Alves de Assis et al., 2014). Literatürdeki verilere göre Diptera grubundaki böceklerde, periferal fat body lipit sentezi ve depolanması ile karakterize olurken, perivisseral fat body proteinlerin depolanması ile karakterize olmuştur (Dean et al., 1985). Fat body'nin dağılışı açısından organizasyonu, böceklerin fizyolojisine ve açık dolaşım sistemine uyumlu şekildedir. Hemosöle sürekli ilişki halinde olduğundan, metabolitlerin ve besinlerin emilimi ile serbest bırakılmasının kolay hale geldiği düşünülmektedir (Gillott, 2005; Nation, 2008; Resh and Cardé, 2009; Chapman, 2013).

Dokunun temel hücresi olan trofositler, yuvarlak veya poligonal şekilli olup büyük düzensiz nukleuslara sahiptir (Haunerland and Shirk, 1995; Resh and Cardé., 2009; Roma et al., 2010; Hsieh and Hsu, 2011; Martins et al., 2011; Pascini et al.,

2011; Chapman, 2013). Böceklerin çoğunda trofositler, ince bir bazal lamina ile desteklenmiştir ve sitoplazmalarında büyük miktarda granüler endoplazmik retikulum, golgi, mitokondri, peroksizom, lizozom ve multiveziküler cisimcikleri içermektedir (Nation, 2008; Resh and Cardé, 2009; Roma et al., 2010; Alves de Assis et al., 2014). Bu organellerin varlığı trofositlerin özellikle hemolenften gelen maddelerin sentezi, absorpsiyonu ve depolanmasında rol aldığını göstermektedir (Roma et al., 2010). Trofositler sitoplazmalarında protein, lipit ve karbonhidrat inklüzyonlarını depolamaktadırlar (Locke, 1984; Arrese and Soulages, 2010; Resh and Cardé, 2009; Pascini et al., 2011; Park et al., 2013; Klowden, 2013). Bu maddeler böceğe hareket ve üreme gibi davranışları için enerji sağlamaktadır (Martins et al., 2011; Pascini et al., 2011). Genç olan hücrelerde bazen birkaç inklüzyon ayırt edilebilip, trofositlerin yuvarlak nukleusları görülebilmektedir. Hücreler olgunlaştıkça ve besin rezervlerini arttırdıkça, vakuolleşme artıp nukleus sıkıştırılmaktadır. Trofositler genellikle integümentin altında bulunmaktadırlar ve çoğu zaman iki ya da üç tabaka halinde vücut boşluğuna doğru dizilmiş olup, metabolik olarak daha aktif olan hücreleri, dolaşım sisteminde rol almaktadır. Renkleri böcek türlerine bağlı olup, böceğin olgunlaşmasıyla da değişmektedir. Bu renkler beyazdan sarıya, kahverengiden maviye kadar geniş bir çeşitlilik gösterebilmektedir (Locke, 1984; Resh and Cardé, 2009; Pascini et al., 2011; Park et al., 2013).

Fat body'ye ait diğer hücreler, Haunerland ve Shirk (1995) tarafından önceleri misetosit ve urat hücreleri olarak tanımlansa da son yıllarda bu hücrelere hemoglobin hücreleri ve kromatositler de eklenmiştir (Resh and Cardé, 2009; Roma et al., 2010). Bunların dışında fat body ile ilişkili olan önositler de vardır. Bahsedilen tüm bu hücrelerin, trofositlerin yapılarındaki bir dizi modifikasyon sonucu oluştuğu düşünülmektedir (Roma et al., 2010).

Misetositler, simbiyotik mikroorganizmaları bulunduran hücre tipidir. Hamamböceklerinde yaygın olup, ilk kez Favre ve Holland tarafından tanımlanmıştır. Bunun dışında bazı Hemiptera türlerinde de bulunmaktadır (Haunerland and Shirk, 1995; Gillott, 2005; Resh and Carde, 2009, Roma et al., 2010; Park et al., 2013; Furtado et al., 2013).

Ürat hücreleri ya da diğer adıyla ürositler, çoğunlukla ürik asitin depolanması ve atılımında görev almaktadır (Dean et al., 1985; Haunerland and Shirk, 1995; Roma et al., 2010; Chapman, 2013). Collembola, Thysanura, Blattodea ve Apocrita (Hymenoptera)'da mevcuttur (Chapman, 2013). Cırcırböceklerinde ve termitlerde

de ürat granüllerine benzer vakuoller bu hücrelerle ilişkili olarak rapor edilmiştir (Park et al., 2013). Ayrıca Lepidoptera ordosuna ait türlerden, özellikle ipekböceği *Bombyx mori* ve *Calpodes ethlius*'ta da bulunmaktadır (Roma et al., 2010).

Kromatositler, nadir görülen bir hücre tipi olarak bilinmektedir. Bu hücreler ince olup nukleusları merkezi konumdadır. Trofositlerde olduğu gibi kromatositler de lipit depolamaktadırlar. Bu durum özellikle sucul böceklerden Simullidae ve Thaumaleidae'nin larval periyotlarında önem arz edip, depolanan lipitler ergine geçişte enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (Dean et al., 1985; Roma et al., 2010). Ayrıca diğer bir fonksiyonu da metamorfozda, kitlesel göçe uğrayarak böceğin renginin değişmesini sağlamaktır (Dean et al., 1985).

Böceklerde en sık görülen fat body hücrelerinden biri de hemoglobin hücreleridir. Temel olarak oksijenin taşınmasından sorumlu olan molekülleri sentezlemektedirler (Roma et al., 2010; Chapman, 2013). Bu hücreler *Chironomus* larvası (Diptera), *Gasterophilus* (Diptera) ve *Anisops* ile *Buenoa* (Hemiptera)'nın larvaları ile ergin bireylerde gözlenmiştir. Özellikle *Chironomus thummi*'de hemoglobin sentezi periferik fat body de gerçekleşmektedir (Bergtrom et al., 1976, Roma et al., 2010). Bu durum da hemoglobin hücrelerinin varlığının kanıtı niteliğindedir.

Önositler ise, trofositlerden sonra en yaygın görülen hücrelerdir. Bu hücreler ektodermal orijinli olup, genel olarak sferik veya oval şekillidirler. Aynı zamanda asidofilik bir sitoplazmaya sahiptirler (Bian et al., 2005; Nation, 2008; Roma et al., 2010; Martins and Ramalho-Ortigão, 2012; Furtado et al., 2013). Lokasyonları türlere ya da gelişim safhalarına göre çeşitlilik göstermektedir. Aynı böcekte hem integümentin hemen altında epidermisle ilişkili olarak, hem de abdominal fat body hücreleri arasında yayılmış olarak bulunabilmektedirler. Abdominal fat body hücreleriyle ilişkili olarak önositler aynı böcekte tek tek veya kümelenmiş hücreler halinde organize olabilmektedir (Nation, 2008; Resh and Cardé, 2009; Roma et al., 2010; Martins and Ramalho-Ortigão, 2012; Furtado et al., 2013). Snodgrass (1935) "öno" ön ekinin Yunancada şarap anlamına geldiğini ve bu yüzden önositlerin soluk kehribar renginde görülmesi gerektiğini savunmuştur. Ancak yapılan güncel çalışmalar önositlerin tek bir renkte değil, türden türe veya gelişime bağlı olarak farklı renk aralıklarına sahip olduğunu göstermiştir. Buna göre önositler, kahverengi, sarı, yeşil ve hatta bazen renksiz görünebilmektedirler. Önositlerin varlıkları uzun zamandır bilinse de böcekteki rolü yeni yeni anlaşılıp araştırmalara konu olmaktadır (Martins and Ramalho-Ortigão, 2012). Bu hücreler böceklerin

çoğunda, hemolenften madde emilimine yardımcı olmaktadır. Ayrıca trofositler gibi glikojen depolayabilmektedirler. Bunun yanında lipitleri ya da lipoproteinik bileşikleri sentezlediği düşünülse de tam olarak bu görevi bilinmemektedir. Bu hücrelerin özellikle Hymenoptera grubunda, türlerin kendi aralarında birbirlerini tanımada rol aldığı yapılan bazı çalışmalarla gösterilmiştir (Wicker-Thomas et al., 2009; Roma et al., 2010). Tüm bunların yanında arthropodlar, atık metabolitlerin zararlı etkilerine karşı bu atıkları dışkı ve idrar olarak dışarı atmak veya bunları nötralize edip fat body de depolamak gibi farklı stratejiler kullanmaktadır. Lycett ve ark. (2006) önositlerin, detoksifikasyonda, insektisit gibi zehirli ve ölümcül potansiyele sahip bileşiklerden korunmada rol oynadığını göstermiştir (Martins and Ramalho-Ortigão, 2012). Önositler ayrıca kütikulanın dış yüzeyinde bulunan hidrokarbonların sentezini sağlayarak su kaybını önlemektedir (Fan et al., 2003; Nation, 2008; Martins et al., 2011; Martins and Ramalho-Ortigão, 2012; Makki et al., 2014).

Fat body, böcekte embriyonik gelişim ilerledikçe değişen pek çok metabolik fonksiyona sahiptir. Özellikle ara metabolizmada rol almakta ve bununla beraber hemolenf proteinlerinin, lipitlerin ve karbonhidratların metabolizmasında oldukça önemli görevleri üstlenmektedir (Maurizii et al., 1992; Haunerland and Shirk, 1995; Feitosa et al., 2006; Alves et al., 2010; Martins et al., 2011; Furtado et al., 2013).

Böcekler, diğer yüksek hayvan gruplarında olduğu gibi enerji kaynağı olarak glikoz ve yağ asitlerini kullanırlar (Azeez et al., 2014), fakat kandaki glikozun bir enerji kaynağı olarak önem arz ettiği omurgalıların aksine, böcek hemolenfinde glikoz ve diğer monosakkaritler genellikle çok az miktarda bulunmaktadır (Gillott, 2005). Karbonhidratlar çoğu böcek için temel enerji kaynağı olsa da, *Tribolium* (un böcekleri), *Lasioderma* (sigara böcekleri) ve *Ptinus* gibi böcekler büyümeleri veya evre değiştirmeleri için spesifik olarak karbonhidratça fakir besinlerle beslenmektedirler. Bu böcekler karbonhidratları genellikle amino asit veya lipitlerden sentezlemektedirler (Nation, 2008; Arrese and Souleges, 2010). Buna karşın, *Tenebrio*, *Ephesta* ve *Oryzaephilus* türleri ergin hale ulaşmak için karbonhidrata ihtiyaç duymaktadır. Ergin Dipterlerden, *Lucilia cuprina*, *Calliphora erythrocephala* ve bazı meyve sineklerinde karbonhidrat, enerji ve hayatın devam etmesi için oldukça önemlidir (Nation, 2008). Glikoz böceklerde glikojen formunda fat body'de depo edilmektedir. Hemolenfte ise trehaloz formunda dolaşmaktadır (Gillott, 2005; Nation, 2008; Arrese and Souleges, 2010; Chapman, 2013). Trehaloz, iki glikoz molekülünün α 1-1 bağı yapması ile oluşmaktadır. Trehalozun hemolenfteki miktarı fat body'de depolanan

glikojen ile belirlenmekte ve dengede tutulmaktadır (Gillott, 2005; Chapman, 2013). Glikojen böceklerde bir çok faaliyet için önemlidir. Örneğin kaslardaki glikojen, memelilerde olduğu gibi glikolitik yollarla indirgenerek doğrudan enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Böylece böceğe uçuş sırasında gereken enerjiyi sağlamaktadır. Glikojen böceğin uçuşındaki rolü dışında, kitin sentezi, stresle ve pestisitlerle baş edebilme gibi önemli olaylarda da rol almaktadır (Gillott, 2005; Azeez et al., 2014; Shukla et al., 2015). Glikojen ayrıca bazı böceklerde yolk üretiminde ve bazılarında ise sert kış koşullarını rahat geçirmede önemli bir bileşendir (Gillott, 2005; Nation, 2008; Arrese and Souleiges, 2010; Azeez et al., 2014; Shukla et al., 2015).

Fat body'nin protein metabolizmasındaki rolüne bakıldığında, hemolenf proteinlerinin sentezlendiği temel bölge olduğu göze çarpmaktadır (Gillott, 2005, Chapman, 2013). Özellikle heksamerlerin depolanması birçok Diptera ve Lepidoptera'da karakterize olmuştur (Gillott, 2005). Proteinler fat body'de protein granülleri içinde depo edilmektedir. Protein granüllerinin ise fat body'deki dağılımının her zaman homojen olmadığı ve hatta bazı türlerde bu granüllerin gözlenmediği bildirilmiştir. Dipterlerde depo proteinleri tüm larval safhada görülmekte olup, en fazla protein sentezi son larval evrede gerçekleşmektedir. Bu proteinler yaklaşık olarak 60mg/ml konsantrasyona ulaştığı zaman hemolenfe salınmaktadır. Metamorfozdan önce hemolenfte en üst seviyeye ulaşan proteinler, ergin bireydeki yeni doku ve proteinler için amino asit deposu olarak görev yapmaktadır (Gillott, 2005; Nation, 2008). Ergin dişilerde fat body, yumurtalardaki yolk proteininin çoğunu oluşturacak olan protein (Clements, 2000; Gillott, 2005; Martins and Pimenta, 2008; Nation, 2008; Roma et al., 2010; Chapman, 2013) olan vitellogenin üretimine katkı sağlamaktadır. Juvenil hormon veya ecdizon tarafından kontrol edilen bu proteinler, gelişen oositlerde depolanmaktadır (Gillott, 2005). Bazı böceklerin ergin erkek bireylerinde ise fat body, spermatofor oluşumunda kullanıldığı düşünülen ve aksesuar bezlerinde depolanan proteinleri üretmektedir (Gillott, 2005; Nation, 2008). Fat body'de ayrıca diyapoz proteinleri de üretilmektedir. *Leptinotorsa* cinsine ait türlerin erginleri, kısa gün şartlarında diyapoza girmektedir. Bu ergin böcekler, vitellogenini ve diyapoz proteinlerini tüm koşullarda sentezleyebilmektedirler. Yeni ergine geçen *Leptinotorsa* cinsi böceklerde, uzun gün koşullarında vitellogenin sentezi artarken, diyapoz proteinlerinin sentezi ise azalmaktadır. Kısa gün (10 saatten az) koşullarında ise, az vitellogenin çok diyapoz proteini sentezlenmektedir. Bunun dışında böcekler pupaya hazırlanırken fat body'de protein sentezi duraklamaktadır. Fat body'de

sentezlenip hemolenfe aktarılan tüm proteinler bu dönemde, fat body'ye tekrar aktarılıp granüller halinde depolanmaktadır (Chapman, 2013).

Çoğu böcek için fat body'de depolanan yağlar glikojen ile beraber temel enerji kaynağını oluşturmaktadır. Bazı böcekler yağı karbonhidratlardan elde ederken, bazıları direkt olarak sentezleyip fat body'de depolanmaktadır (Gillott, 2005; Nation, 2008). Diğer hayvanlardaki gibi böceklerde de yağ, trigliseritler şeklinde depo edilmektedir. Bunlar, sindirim sırasında elde edilen yağ asitleri ve gliserol ile ya da amino asit ve basit şekerlerle kombinasyonu ile de çeşitli şekillerde olabilmektedir (Gillott, 2005). Beslenme sırasında böcekler için gerekli olan spesifik lipit steroldur, bazı böceklerde ise çoklu doymamış yağ asitlerine ihtiyaç duyulmaktadır (Nation, 2008). Bazı böceklerin erginlerinde beslenme olmamaktadır. Lepidopterler bu guruba verilebilecek bir örnektir, Lepidopterlerde beslenme için gereken ağız parçaları tam olarak gelişmemiştir. Bu gruba ait türler, larval dönemde sentezledikleri ve pupal dönemde depoladıkları besinler, özellikle de yağlar sayesinde hayatta kalıp üreme davranışını gerçekleştirebilmektedirler. Pupalaşma sırasında *Drosophila melanogaster*'de larval dönemdeki fat body hücreleri korunmaktadır ve erginler bir besin kaynağı bulana kadar kısa süreli olarak bu hücrelerdeki yağları kullanmaktadırlar (Nation, 2008). Yağlar böcekte embriyogenez, metamorfoz, açlık ve sürekli uçuş gibi uzun vadeli enerji kullanımı gerektiğinde birincil enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Ağırlık bazında yağlar, karbonhidratlardan iki kat daha fazla enerji içerirler, dolayısıyla depolanması daha ekonomiktir. Yağ tipik olarak böcek juvenil formdayken depo edilmektedir (Gillott, 2005; Nation, 2008). Genel olarak böceklerin aktif beslendiği zamanlarda lipit depolanmasında bir artış görülmektedir. Artan lipitler, fat body'nin ana hücreleri olan trofositlerde yağ damlacıkları olarak biriktirilmektedir (Arrese and Souleges, 2010). Lipitlerin çoğu erginlerde vitellogenesis sırasında yumurtada biriktirilmektedir (Maurizii et al., 1992; Haunerland and Shirk, 1995; Clements, 2000; Roma et al., 2010; Azeez et al., 2015). Fat body aynı zamanda omurgalılarıdaki yağ dokuya eşdeğer olarak da bilinmektedir. Yalnız, omurgalılarından özellikle memelilerdeki yağ dokuyla benzer gelişim gösterse de fat body oldukça farklı görevlere sahiptir (Roma et al., 2010; Chapman, 2013; Azeez et al., 2014). Fat body, yağ dokunun tersine, çeşitli maddelerin metabolizmasına öncülük etmek üzere hemolenfe iletilecek olan temel proteinlerin ve karbonhidratların da kaynağı olarak düşünülmektedir (Liu et al., 2009; Alves et al., 2010; Roma et al., 2010). Bu makromoleküller holometabol böceklerde metamorfoz, erginlerde de üremek ve uçmak için kullanılmaktadır (Snodgrass, 1935; Resh and Cardé, 2009; Furtado et al., 2013). Metabolik atıkları ise boşaltım

sistemine iletmektedir (Gilbert and Chino, 1974). Ayrıca sinyallere cevap verip, uygun zamanlarda metabolik bileşenleri depolaması veya serbest bırakması sayesinde böceğin büyümesini de kontrol etmektedir (Klowden, 2013). Fat body, alkol metabolizmasında yer alan alkol dehidrogenazı da sentezlemektedir. Tüm bu boşaltım, detoksifikasyon, fazla besini hemolenfte depolama görevleri düşünüldüğünde omurgalıların karaciğerine eşdeğer bir organ olduğu anlaşılmaktadır (Gillott, 2005; Martins and Pimenta, 2008; Roma et al., 2010; Chapman, 2013, Klowden, 2013).

Yapılan son çalışmalar fat body'nin immün sistem elemanlarının, antibakteriyel bileşiklerin ve kan pıhtılaşma proteinlerinin üretilmesinden de sorumlu olduğunu göstermektedir (Vilmos and Kurucz, 1998; Araújo et al., 2007; Martins and Pimenta, 2008; Azeez et al., 2014). Bununla ilişkili olarak *D. melanogaster* ile yapılan çalışma, fat body'nin önemli bazı antimikrobiyal peptitleri sentezlediğini ortaya koymuştur (Martins and Pimenta, 2008). İmmün savunma için özellikle defensinlerin önemi büyüktür. Defensinler fat body tarafından sentezlenip hemolenfte salınarak bakteri, maya ve virüs gibi patojenlere karşı immün yanıt oluşturmaktadırlar (Alves et al., 2010). Fat body, vücut boşluğundaki konumu ve geniş bir yer kaplaması nedeniyle invaziv organizmalara karşı hızla etkili konsantrasyonlara ulaşabilen maddeleri salgılayabilen güçlü bir dokudur (Martins and Pimenta, 2008).

Yapılan literatür taramasıyla birlikte, çeşitli uluslararası çalışmalarda böceklerdeki fat body yapısıyla ilgili araştırmalar göze çarpmış fakat sivrisinek türü *Culex pipiens*'le ilgili böyle bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma, fat body'nin böceklerin fizyolojisini ve buna bağlı olarak gelişimlerini anlamada önemli bir yapı olması nedeniyle, *C. pipiens*'te fat body'nin ve hücrelerinin araştırılıp ortaya konulması, temel bilimlere ve ileride *C. pipiens* türüyle ilgili herhangi bir histolojik veya fizyolojik çalışma yapmak isteyen araştırmacılara katkı sağlamak amacıyla yürütülmüştür. Bu çalışmayla *C. pipiens*'in fat body yapısına ait hücre tiplerinin ve bu hücrelerin içerdiği karbonhidrat, protein ve yağ gibi moleküllerin farklı histokimyasal yöntemler kullanılarak belirlenmesi amaçlanmaktadır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Hayvan Eldesi ve Yetiştirilmesi

Çalışmada kullanılan örnekler, Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Egemikal Analiz Laboratuvarı, Haşere Grubu Biyolojik Etkinlik Laboratuvarı'ndan elde edilmiştir. Çalışmada 4.evre larva, erken pupa, geç pupa ve erginlerden de dişi ve erkek bireyler kullanılmıştır. Larvalar öğütülmüş tavuk ciğeriyle, erginler de %10'luk şekerli suyla beslenmiştir. Pupalarda ise beslenme davranışı gözlenmemektedir. Beslenmenin dışında ortam sıcaklığı ve nem miktarı da önemli olduğundan, laboratuvar koşulları bütün yetiştirme süresi boyunca 25°C sıcaklıkta, %65-70 nemde, 12 saat gündüz/12 saat gece olacak şekilde sabit tutulmuştur.

2.2. Histolojik İnceleme

Fat body hücre tiplerinin gösterilmesine yönelik farklı boya yöntemlerinin uygulanabilmesi için farklı fiksatiflerde tespit işlemi gerçekleştirilmiştir. Örnekler disekte edilmeyip total gömme yönteminden sonra enine kesit alma işlemi gerçekleştirilmiştir. Yalnızca erginlerin kanatları ve bacakları preparasyon sırasında kirlilik ve karışıklık yaratmaması için kesilmiştir.

Çizelge 2.1. Kullanılan fiksatifler ve yıkama solüsyonları

Fiksatif	İçeriği	Süre	Yıkama	Süre
Bouin	75ml doymuş pikrik asit, 25ml %40 formaldehit, 5ml asetik asit	24 saat	%70 alkol	Sarı renk gidene kadar
%10 Formalin	90ml saf su, 10ml formaldehit	24-48 saat	Akar çeşme suyu	Fiksatifte durduğu süre kadar
Saint-Marie	99ml %95 alkol, 1ml asetik asit	24 saat	%95 alkol	Birkaç kez

Bouin fiksatif ile tespit işlemi gerçekleşen örneklerin genel yapılarını göstermek amacıyla, rutin boya olarak bilinen Hematoksilin Eozin boyası uygulanmıştır. Buna ek olarak literatürde bağ doku boyası olarak geçen Pollak's Trikróm boyası kullanılarak da genel yapılar gösterilmiştir. Ancak yağ moleküllerini belirleme amacıyla rutin işlemlerden farklı olarak tüm evrelere ait örnekler, polyfreeze (P0091, Sigma) adı verilen kriyostat kesimine uygun gömme materyali içerisine alınıp -80°C'de soğutucu (Hettich Freezer, Böcek Fizyolojisi Araştırma Laboratuvarı)'da bekletilmiştir. Daha sonra kriyostat (Leica CM1100,

Böcek Fizyolojisi Araştırma Laboratuvarı)'ta 10 μ 'luk kesitler lizinli lamlara (2502001, Thermo Scientific) alınarak bekletilmeden kısa süreli tespit yapıldıktan sonra Sudan black B boyası ile boyanmıştır. Fat body hücre tiplerinin belirlenmesinde hücrelerin içerdiği maddelerin farklılığına göre, karbonhidrat içeriğini göstermek için Periyodik Asit Schiff (PAS), protein içeriğini göstermek için merkürük bromofenol mavisi, yağ içeriğinin belirlenmesi için de Sudan black B uygulanmıştır.

2.2.1. Genel yapı için boya metotları

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

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 μ)
8. deparafinize işlemi (ksilol) 15 dk (2 defa)
9. hidrasyon (%100, 96, 70 alkol) 15'er dk
10. Mayer's Hematoksilen CI. 75290 (109249, Merck) 5 dk
11. yıkama (akar çeşme suyu) mavi-mor renk olana kadar
12. saf suda çalkalama
13. Eozin CI. 45380 (109844, Merck) 1-2 dk
14. yıkama (saf su)
15. dehidrasyon (%70, 96 ve 100 alkol) çalkalama, 5, 10 dk
16. şeffaflaştırma (ksilol) 15 dk (2 defa)
17. preparatı kapama (entellan)

Pollak's Trikróm (Humason, 1962)

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 μ)
8. deparafinize işlemi (ksilol) 15 dk (2 defa)
9. hidrasyon (%100, 96, 70 alkol) 15'er dk
10. Mayer's Hematoksilen 5dk
11. yıkama (akar çeşme suyu)
12. Trikrom boyası 7dk
13. saf su ile çalkalama
14. asitli su birkaç saniye
15. dehidrasyon (%70, 96, 100 alkol) çalkalama, birkaç saniye, 10 dk)
16. şeffaflaştırma (ksilol) 15dk (2 defa)
17. preparatı kapatma (entellan)

Trikrom boyasının hazırlanışı

Asit fuksin CI. 42685 (7629, Merck)	0,5gr
Ponceau CI. 16255 (Ed. Gurr.)	1gr
Light green SF CI. 42095 (115941, Merck) ...	0,45gr
Orange G CI. 16230 (07252, Sigma)	0,75gr
Fosfotungstik asit	1,5gr
Fosfomolibdik asit	1,5gr
Asetik asit	3ml

Asitli su hazırlanması

Asetik asit	0,2ml
Saf su	100ml

2.2.2. Makromoleküller için boya metotları

Periyodik Asit Schiff (PAS) (karbonhidrat için)

1. fiksasyon (Saint-Marie)
2. yıkama (%96 alkol)
3. dehidrasyon (%96, 100 alkol) 15'er dk
4. şeffaflaştırma (ksilol) 15 dk (2 defa)
5. parafine gömme
6. trimleme
7. kesit alma (5 μ)
8. deparafinize işlemi (ksilol) 15 dk (2 defa)
9. hidrasyon (%100, 96, 70 alkol) 15'er dk

10. Alcian Blue 8GX 30 dk
11. akar çeşme suyunda yıkama
12. saf suda çalkalama
13. Schiff reaktifi CI. 42500 (109033, Merck) 20dk
14. sülfüroz asit 12dk
15. akar çeşme suyunda yıkama
16. saf suda çalkalama
17. dehidrasyon (%70, 96 ve 100 alkol) çalkalama, 5, 10 dk
18. şeffaflaştırma (ksilol) 15dk (2 defa)
19. preparatı kapama (entellan)

Alcian blue hazırlanışı

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

Sülfüroz asit hazırlanışı

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

Merkürük Bromofenol Mavisi (protein için)

1. fiksasyon (%10 formalin)
2. yıkama (akar çeşme suyu)
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 μ)
8. deparafinize işlemi (ksilol) 15 dk (2 defa)
9. hidrasyon (%100, 96, 70 alkol) 15'er dk
10. Merkürük bromofenol mavisi 2saat 15dk
11. %0,5 asetik asitte yıkama 10dk
12. saf suda yıkama (kesitler mavi olacak şekilde) ... 15dk
13. dehidrasyon (%70, 96 ve 100 alkol) çalkalama, 5, 10 dk
14. şeffaflaştırma (ksilol)15 dk (2 defa)
15. preparatı kapama (entellan)

Merkürük bromofenol mavisi hazırlanışı

Merkürük klorit 1,2gr
Bromofenol blue (B8026, Sigma) 0,05gr
Asetik asit 2ml

Sudan Black B (yağ için) (University of Rochester Medical Center, 2017'den değiştirilerek)

1. 10µ'luk kesitler için %10 formaldehitte fiksasyon 15dk
2. Sudan black B 5dk
3. %70 izopropil alkol çalkalama (2 defa)
4. saf suda yıkama
5. Nuklear Fast Red 3 dk
6. saf suda yıkama
7. gliserin jelly ile kapama

Sudan Black B hazırlığı

Sudan black B CI. 26150 (34071, BDH Chemicals) 1g
İzopropil alkol 70ml

30 dk manyetik karıştırıcıda karıştırılır. 30 ml saf suda 0,3 g dekstrin çözdürüldükten sonra Sudan black B solüsyonuna eklenir. 5 dk kadar karıştırıldıktan sonra Whatmann no:4 filtre kağıdından süzülerek koyu renkli bir şişede saklanır. Her kullanımdan önce tekrar süzülmalıdır.

Nuclear Fast Red (Kernechtrot) hazırlığı

%5'lik amonyum sülfat 100ml
Nuclear Fast Red CI. 60760 (15939, Merck) 0,1g

Karıştırma işleminin ısıtılarak yapılması çözünmeyi kolaylaştırmaktadır. Solüsyon soğuduktan sonra filtre kağıdı yardımıyla süzülür. Koruyucu olarak birkaç tane timol kristali eklenebilir.

Gliserin Jelly hazırlığı

Jelatin 10g
Saf su 60ml

Jelatin çözüneceye kadar ısıtılır.

Gliserin 70ml

Fenol (eritilmiş) 1ml

Preparatlar tamamen kuruduktan sonra, Zeiss Axio Scope A1 marka mikroskopla ZEN görüntü analiz yazılımı kullanılarak fotoğrafları çekilip gerekli değerlendirmeler yapılmıştır.



3. BULGULAR

3.1. Genel Bulgular

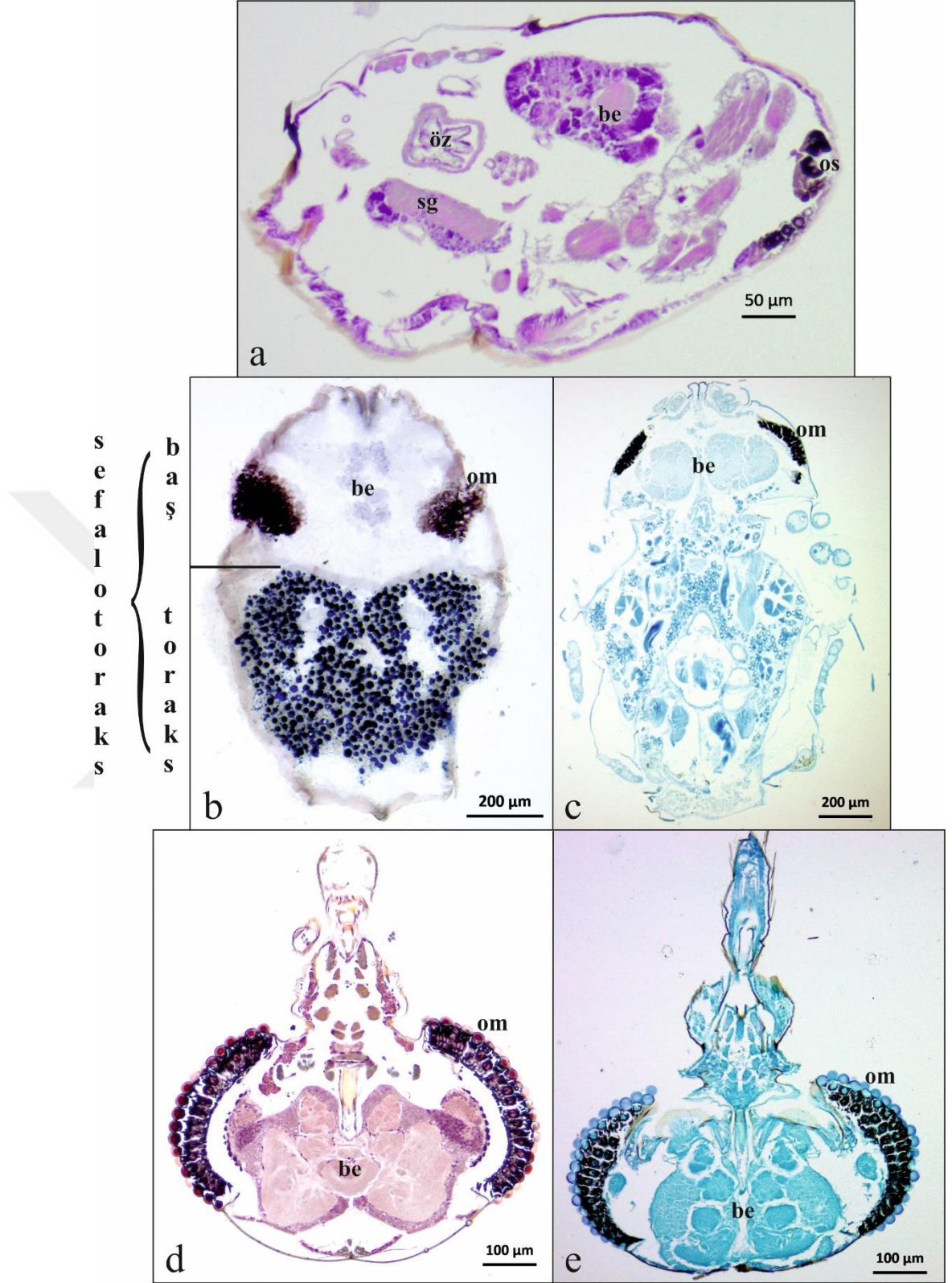
Fat body'nin genel yapısını göstermek amacıyla öncelikli olarak histolojinin temel boyası olan Hematoksilen Eozin (H&E) kullanılmıştır. Denemeler sonucu hücre sınırlarının ve protein granüllerinin daha net görüldüğü anlaşılan Pollak's Trikrom boyası da genel yapıyı belirlemek amacıyla tercih edilmiştir. Ayrıca makromolekülleri ayırt edebilmek için öngördüğümüz Periyodik Asit Shiff (PAS), merkürük bromofenol mavisi ve Sudan black B boyamaları, fat body'nin genel yapısını ortaya koymada H&E ve Pollak's trikrom boyamalarından elde edilen bulguların sağlaması ve kontrolü niteliğindedir. Tüm evrelerde karşılaştırmayı kolaylaştırmak ve hata payını en aza indirmek için bölge parametreleri koyulmuştur. Buna göre dördüncü evre larva ve erginler için baş, toraks, abdomenin başlangıcı ve abdomenin sonu seçilmiştir. Erken ve geç pupa için ise sefalotoraks, abdomenin başlangıcı ve abdomenin sonu seçilmiştir. Tüm evreler incelendiğinde belirgin olarak 2 tip hücre tespit edilmiştir: trofositler ve önositler.

Dördüncü evre larvanın baş bölgesinin geneline bakıldığında tipik bir beyin, özofagus, subözofageal gangliyon, göz ve kas grupları gözlenmiştir. Dipterlerde fat body'nin temel hücresi olan trofositlerin, baş bölgesinde bulunmadığı tespit edilmiştir. Fat body ile ilişkili olan önositlere de baş bölgesinde rastlanmamıştır (Şekil 3.1a).

Erken pupada larvadan farklı olarak, baş ve toraksın kesitlerde birlikte yer alması ommatidyum, beyin, bağırsak ve kas gruplarının görülmesine neden olmuştur. Erken pupanın sefalotoraksının, baş bölgesine karşılık gelen kısmında trofositlere rastlanmamıştır (Şekil 3.1b).

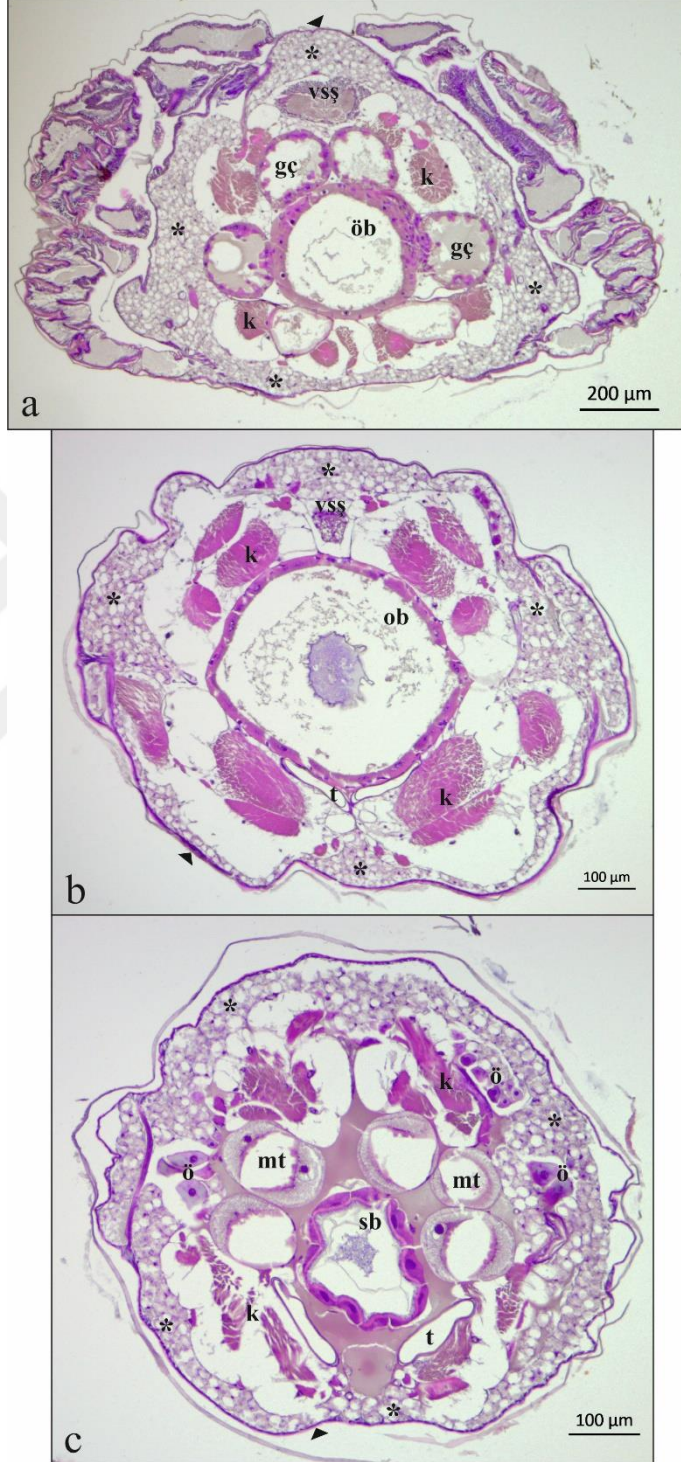
Geç pupa incelendiğinde, erken pupada olduğu gibi ergin gözü verecek olan ommatidyum, beyin, bağırsak ve kas grupları bir arada görülmektedir. Sefalotoraksın baş bölgesine karşılık gelen kısmında da trofositlere rastlanmamıştır (Şekil 3.1c)

Ergin dişinin baş bölgesinde oldukça iri bir beyin ve laterallerde gözler yer almaktadır. Burada trofositler gözlenmemektedir (Şekil 3.1d). Ergin erkekte ise baş bölgesi dişiyile aynı şekilde görülmektedir (Şekil 3.1e).



Şekil 3.1. Farklı evrelerde baş bölgelerinin histolojik görünümü. a) 4. evre larva (H&E), b) Erken pupada sefalotoraks (Sudan black B), c) Geç pupada sefalotoraks (Merkürük bromofenol mavisi), d) Ergin dişi (Pollak's trikrom), e) Ergin erkek (PAS). **be**; beyin, **om**; ommatidyum, **os**; osel, **öz**; özofagus, **sg**; subözofageal gangliyon.

Dördüncü evre larvada fat body'nin, toraks bölgesinde merkezde bağırsak ve etrafındaki gastrik çekalar ile integüment arasında, çepeçevre yoğun bir şekilde yayıldığı gözlenmiştir (Şekil 3.2a, 3.6a, 3.10a, 3.14a, 3.18a).



Şekil 3.2. *Culex pipiens*'in 4. larval evresinin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Mayer's Hematoksilen-Eozin boyasıyla gösterimi. a) Toraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. **gç**; gastrik çeka, **k**; kas, **mt**; Malpighi tüpleri, **ob**; orta bağırsak, **ö**; önosit, **öb**; ön bağırsak, **sb**; son bağırsak, **t**; trake, **vss**; ventral sineridi, *****; trofositler, **►**; integüment.

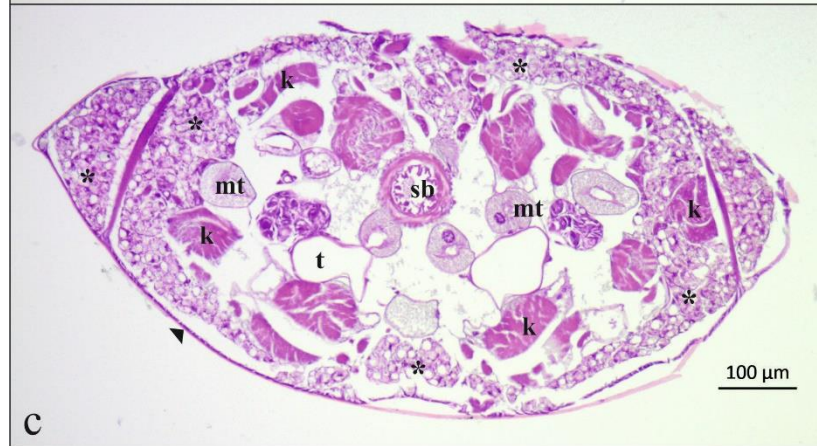
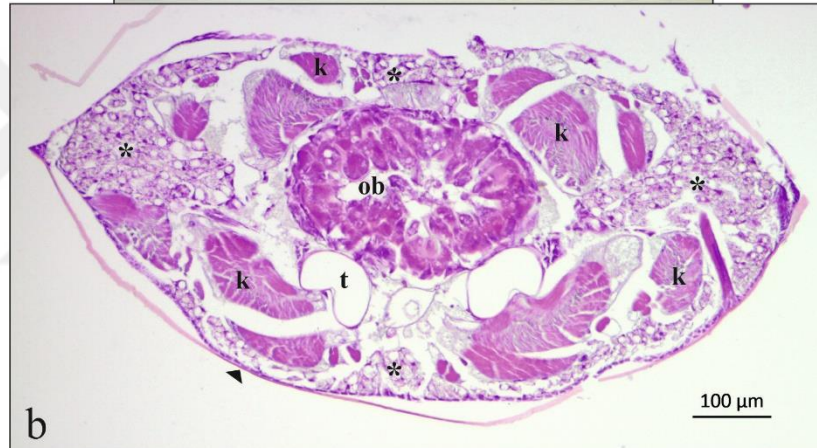
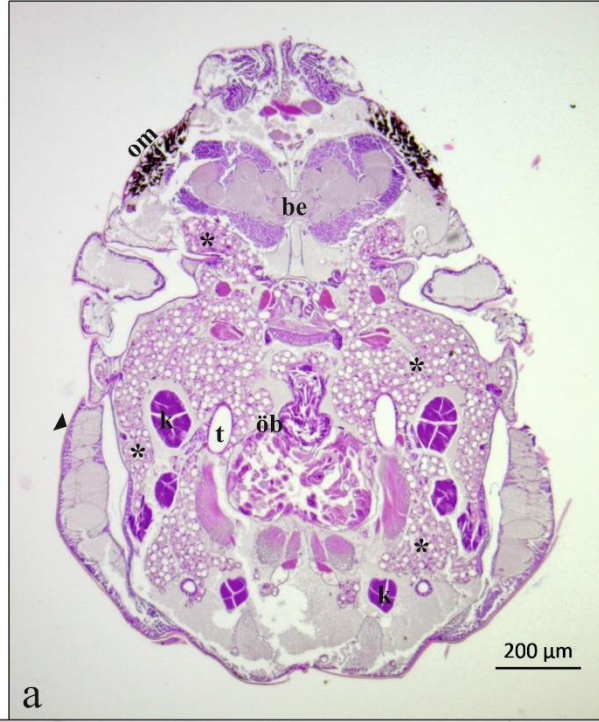
Abdomenin başlangıç bölgesinde ise oldukça genişleyen bir orta bağırsak ve iri kas grupları olduğu, bundan dolayı da fat body'nin integümente doğru itilmiş olduğu belirlenmiştir. Buradaki trofositler toraks bölgesine göre biraz daha azalmış durumdadır. Baş ve toraksta rastlanmayan önositlere burada integümentin altında vücut boşluğuna komşu bölgelerde yer yer rastlanmıştır (Şekil 3.2b, 3.6b, 3.10b, 3.14b, 3.18b).

Abdomenin sonuna yaklaşıldıkça, bağırsağın etrafında Malpighi tüpleri yer almaktadır. Burada fat body hücrelerinin Malpighi tüpleri ve integüment arasında, abdomenin başlangıcına kıyasla biraz daha yoğun oldukları belirlenmiştir (Şekil 3.2c, 3.6c, 3.10c, 3.14c, 3.18c). Abdomenin başlangıç bölgesinde görülen önositler, abdomenin sonunda bazı bölgelerde yine vücut boşluğunda bulunurken bazı bölgelerde yoğunluğu artan trofositlerce çevrelenmiştir (Şekil 3.2b ve c).

Erken pupanın sefalotoraksında, toraksa karşılık gelen kısmında dördüncü evre larvanın toraks bölgesinde görülen vücut boşluklarının neredeyse tamamı trofositlerce doldurulmuştur (Şekil 3.3a, 3.7a, 3.11a, 3.15a, 3.19a).

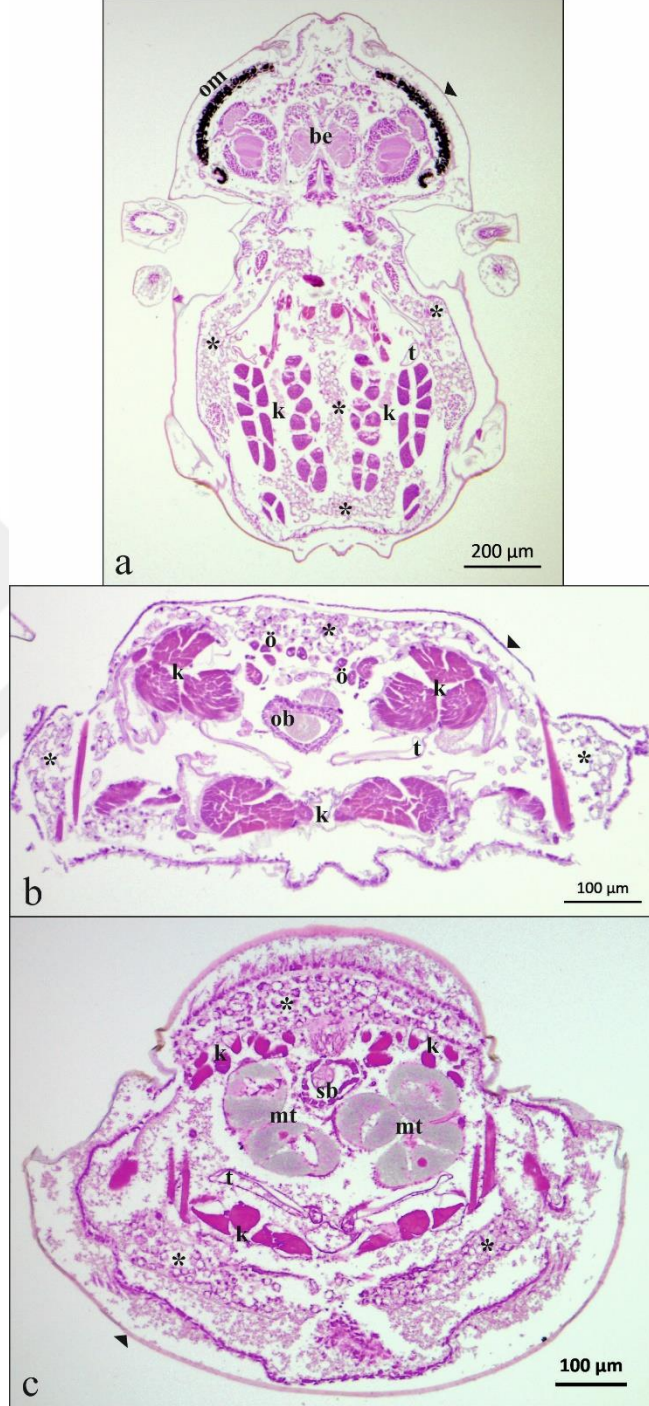
Abdomenin başlangıç bölgesinde çok katlı epitele sahip olan bir orta bağırsak göze çarpmaktadır. Trofositler integüment ile kas grupları arasında ağırlıklı olarak ventral ve lateralde bulunmaktadır (Şekil 3.3b, 3.7b, 3.11b, 3.15b, 3.19b). Sefalotorakstaki trofositler ile abdomenin başlangıç bölgesindeki trofositler neredeyse aynı yoğunluğa sahiptir (Şekil 3.3a ve b). Dördüncü larval evredeki abdomenin başlangıç bölgesi ile kıyaslandığında da yoğunluğun neredeyse aynı olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.2b ve 3.3b)

Abdomenin son bölgesine bakıldığında genel olarak son bağırsak, çevresinde Malpighi tüpleri ve çeşitli boyutlarda kas grupları görülmüştür (Şekil 3.3c, 3.7c, 3.11c, 3.15c, 3.19c). Trofositler, abdomenin başlangıç kısmında olduğu gibi ventral ve lateralde yayılmıştır (Şekil 3.3b ve c). Erken pupada abdomen sonundaki trofositlerin, larvanın abdomen sonuna göre daha yoğun olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.2c ve 3.3c).



Şekil 3.3. *Culex pipiens*'in erken pupa evresinin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Mayer's Hematoksilen Eozin Boyasıyla gösterimi. a) Toraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. **be**; beyin, **k**; kas, **mt**; Malpighi tüpü, **ob**; orta bağırsak, **öb**; ön bağırsak, **sb**; son bağırsak, **t**; trake, *****; trofosit, **▶**; integüment.

Geç pupanın toraksa karşılık gelen kısımdaki trofositler ise erken pupaya göre oldukça azalmış ve yerini kas gruplarına bırakmıştır (Şekil 3.4a, 3.8a, 3.12a, 3.16a, 3.20a). Bu kas grupları erginde uçuş ve bacak kaslarının öncüleridir.



Şekil 3.4. *Culex pipiens*'in geç pupa evresinin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Mayer's Hematoksilen Eozin Boyasıyla gösterimi. a) Toraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. **be**, beyin, **k**; kaslar, **mt**; Malpighi tüpü, **ob**; orta bağırsak, **öb**; ön bağırsak, **sb**; son bağırsak, **t**, trake, *****; trofosit, **▶**; integüment.

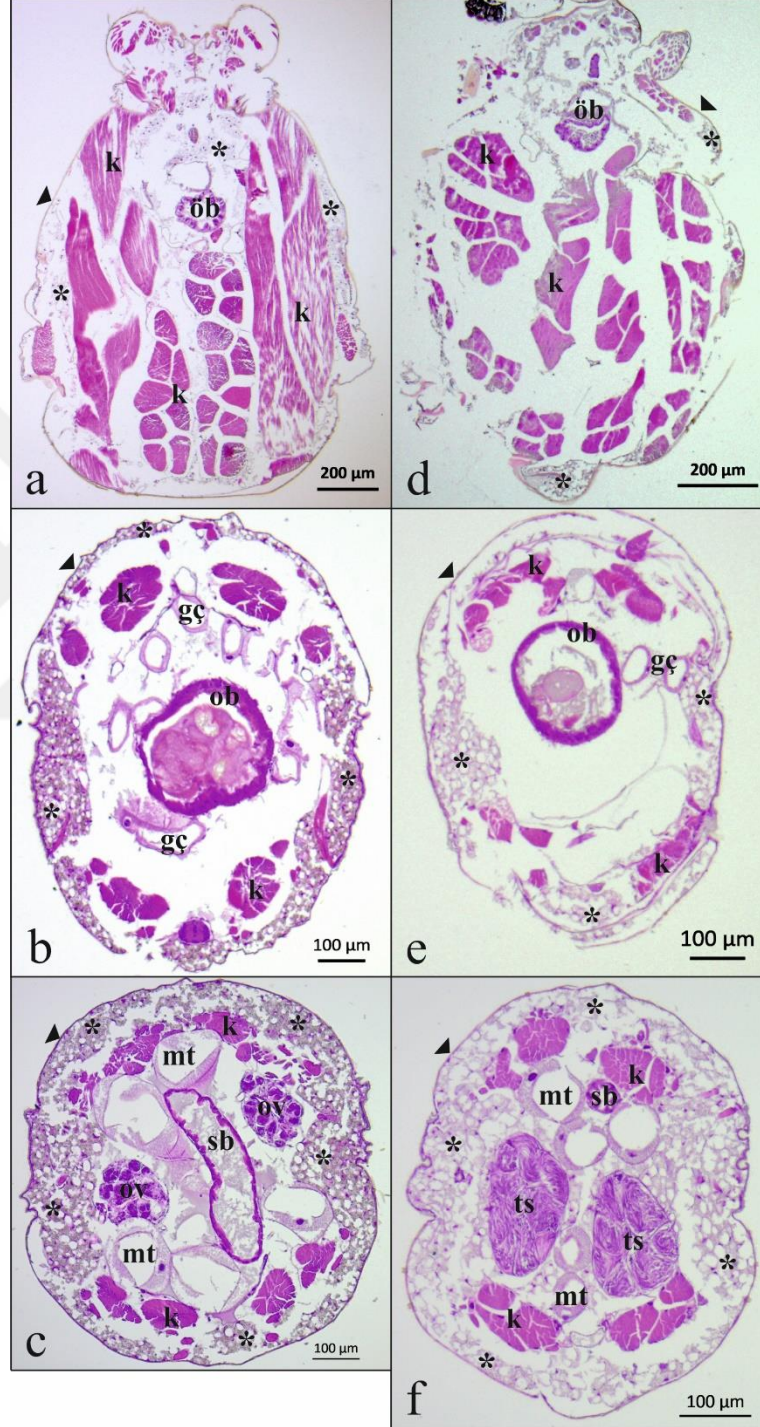
Abdomenin başlangıcında, vücut boşluğunda orta bağırsak ve iri kas demetleri yer almaktadır (Şekil 3.4b, 3.8b, 3.12b, 3.16b, 3.20b). Trofositler, erken pupadaki gibi ağırlıklı olarak ventral ve laterallerde toplanmışlar ancak yoğunluklarında bir azalma olmuştur (Şekil 3.3b ve 3.4b). Abdomenin sonunda, son bağırsak ve etrafında Malpighi tüpleri ile geneli küçük boyutlu kas grupları gözlenmiştir. Buradaki trofositler erken pupada olduğundan çok daha fazladır. Vücut boşluğunun her yerine dağılmış şekildedir (Şekil 3.4c, 3.8c, 3.12c, 3.16c, 3.20c).

Geç pupanın sefalotoraksında gözlenen kas grupları hem ergin dışıde hem de ergin erkekte tamamen irileşmiş ve bütün vücut boşluğunu doldurmuş durumdadır. Bu kaslar erginde hem uçma hem de bacak kaslarını oluşturmaktadır. Geç pupada kas gruplarının arasında daha fazla trofosit gözlemlenmişken erginde trofositler oldukça azalmıştır (Şekil 3.4a, Şekil 3.5a ve d). Abdomenin başlangıç kısmında geç pupada iri kas grupları erginde yerini daha küçük kas gruplarına bırakmıştır. Trofositler erginde laterallerde toplanmıştır (Şekil 3.4b, Şekil 3.5b ve e). Erginde abdomenin son bölgesi ise geç pupayla benzerlik göstermektedir. Trofositler tüm vücut boşluğuna yayılmış haldedirler (Şekil 3.4c, Şekil 3.5c ve f).

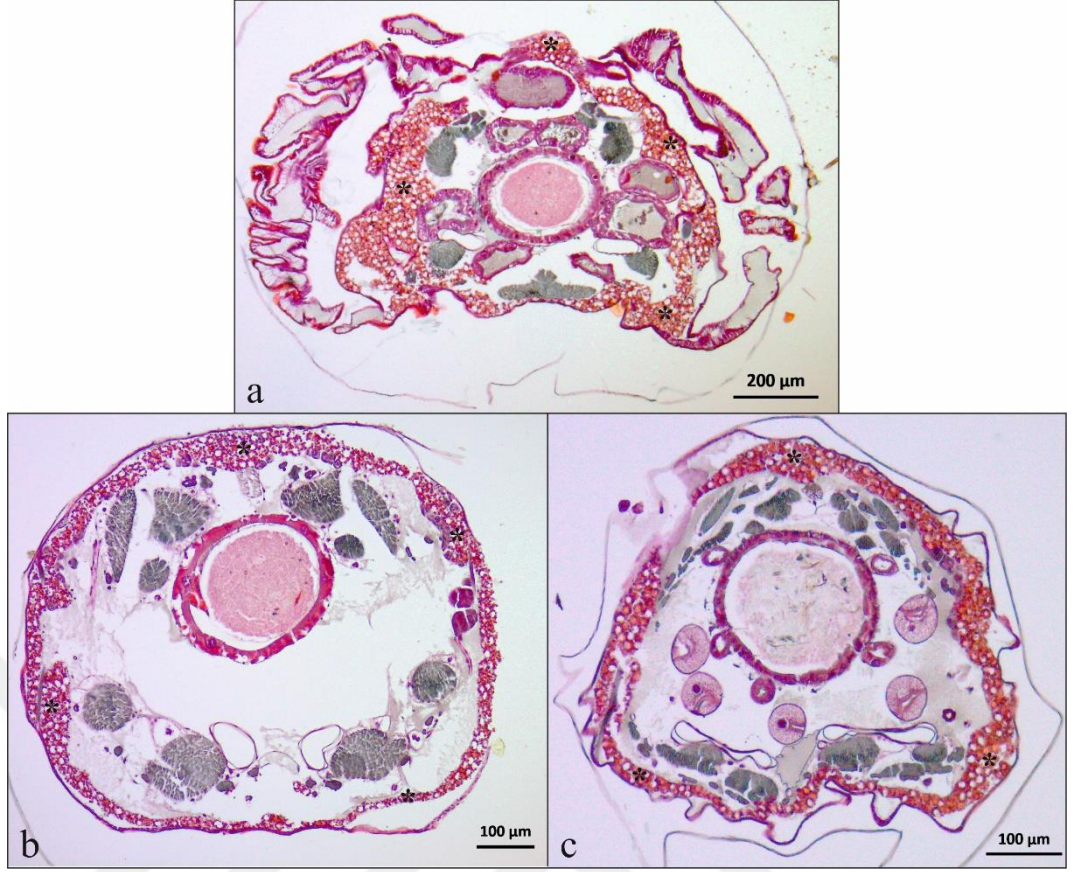
Ergin dışının toraks bölgesi incelendiğinde ise vücut boşluğunu neredeyse tamamen kaplayan oldukça iri kas grupları gözlenmiş, trofositlerin bu kas gruplarının arasında, integümentin hemen altında ve bağırsağın çevresinde az miktarda olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.5a, 3.9a, 3.13a, 3.17a, 3.21a). Abdomenin başlangıcında merkezde orta bağırsak ve etrafında çeşitli boyutlardaki kas grupları yer almaktadır. Trofositler, ventral ve dorsalde integümentin hemen altında yoğunluğu az olarak bulunurken, laterallerde yoğunlaşmış olarak bulunmaktadır (Şekil 3.5b, 3.9b, 3.13b, 3.17b, 3.21b). Abdomenin son bölgesi incelendiğinde trofositlerin bu bölgede oldukça yoğunlaştığı, neredeyse tüm vücut boşluğunu doldurduğu ve özellikle üreme organı olan ovaryumların etrafını çevrelediği gözlenmiştir (Şekil 3.5c, 3.9c, 3.13c, 3.17c, 3.21c).

Ergin erkeğin toraksında yine dışıyla benzer şekilde tüm vücut boşluğuna dağılmış iri kas grupları ve bu kas gruplarının arasında, bağırsağın çevresinde ve integümentin hemen altında yoğunluk olarak dışıyla hemen hemen aynı olan trofositler gözlenmektedir (Şekil 3.5d, 3.9d, 3.13d, 3.17d, 3.21d). Abdomenin başlangıcında ise yine dışıyla benzer şekilde merkezde iri bir orta bağırsak ve etrafında irili ufaklı kas grupları yer almaktadır. Trofositler dorsal ve ventralde de bulunmasına rağmen laterallerde yoğunlaşmıştır (Şekil 3.5e, 3.9e, 3.13e, 3.17e,

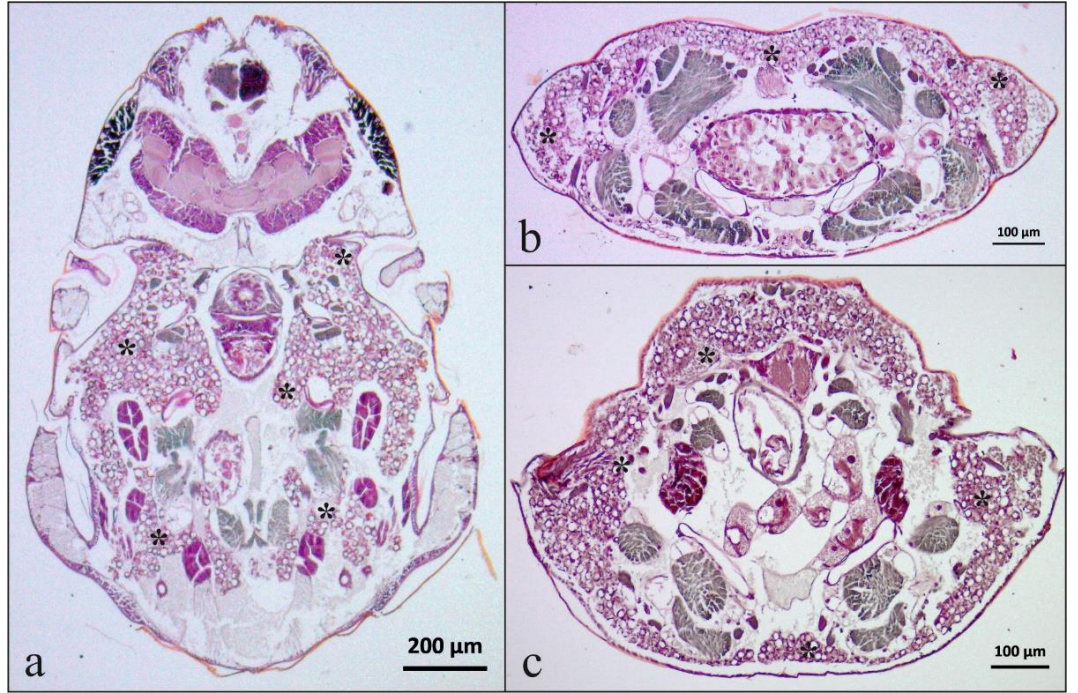
3.21e). Abdomenin son bölgesinde ise trofosit yoğunluğunda gözle görülür bir artış söz konusudur. Trofositler tüm vücut boşluğuna dağılmış olup, son bağırsak, Malpighi tüpleri ve özellikle erkek üreme organı olan testislerin etrafını çevrelemiştir (Şekil 3.5f, 3.9f, 3.13f, 3.17f, 3.21f).



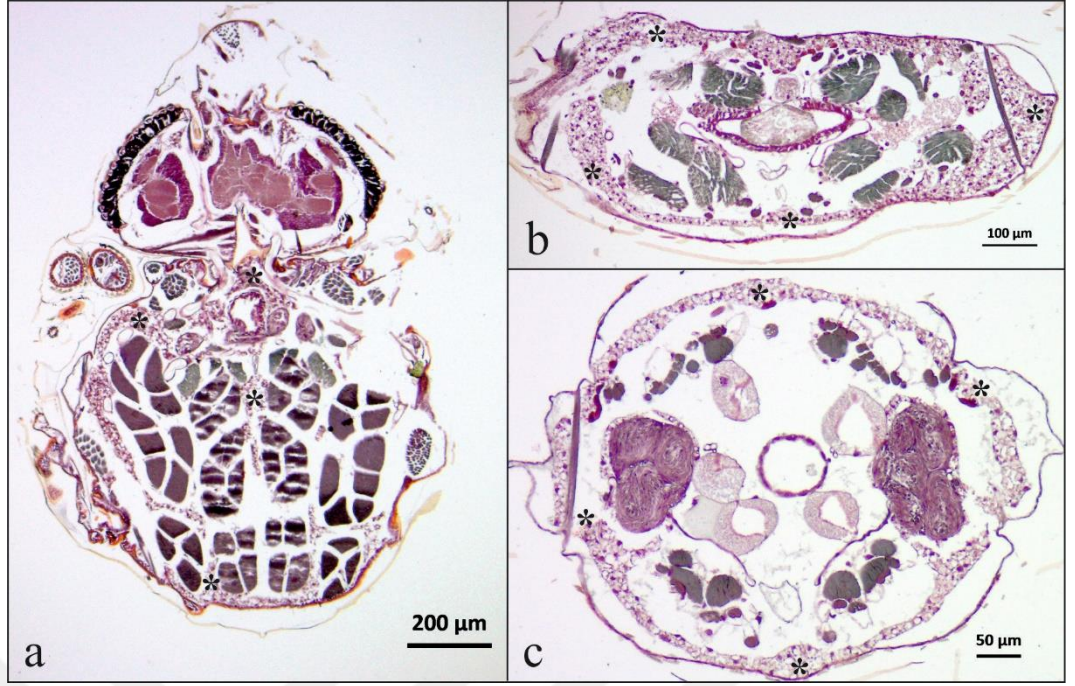
Şekil 3.5. Erginin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Mayer's Hematoksilen-Eozin boyasıyla gösterimi. a, b, c) Dişide sırasıyla toraks, abdomen başı ve sonu, d, e, f) Erkekde sırasıyla toraks, abdomen başı ve sonu. **gc**; gastrik çeka, **k**; kas, **mt**; Malpighi tüpleri, **ob**; orta bağırsak, **ov**; ovaryum, **öb**; ön bağırsak, **sb**; son bağırsak, **ts**; testis, *; trofosit, ▶; integüment.



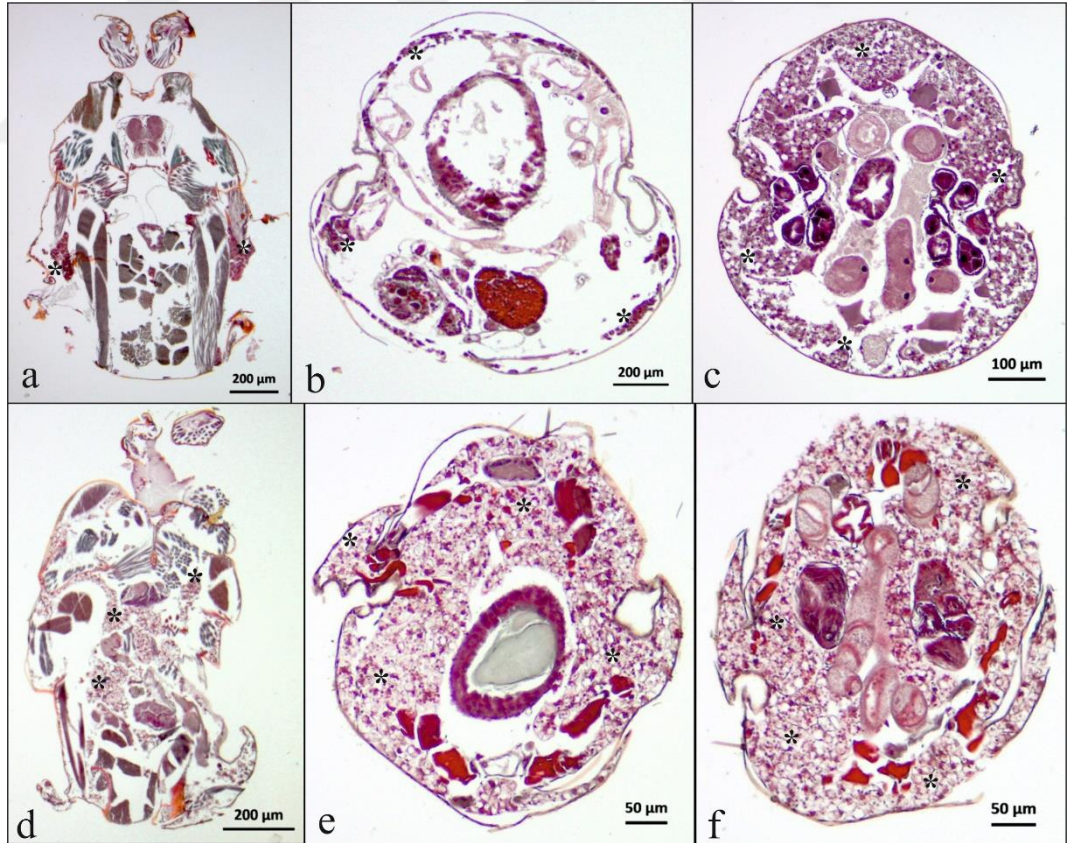
Şekil 3.6. *C. pipiens*'in 4. larval evresinin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Pollak's trikrom boyasıyla gösterimi. a) Toraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. *; trofositler.



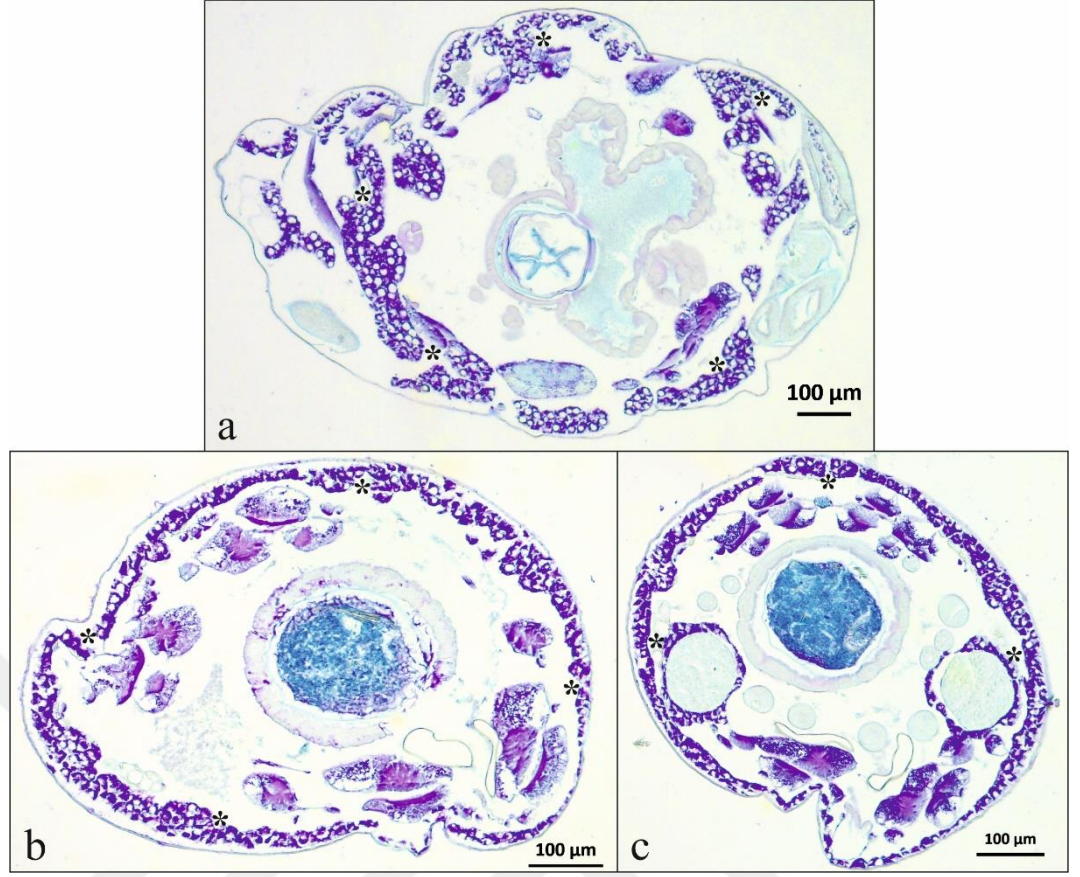
Şekil 3.7. *C. pipiens*'in erken pupa evresinin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Pollak's trikrom boyasıyla gösterimi. a) Sefalotoraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. *; trofositler.



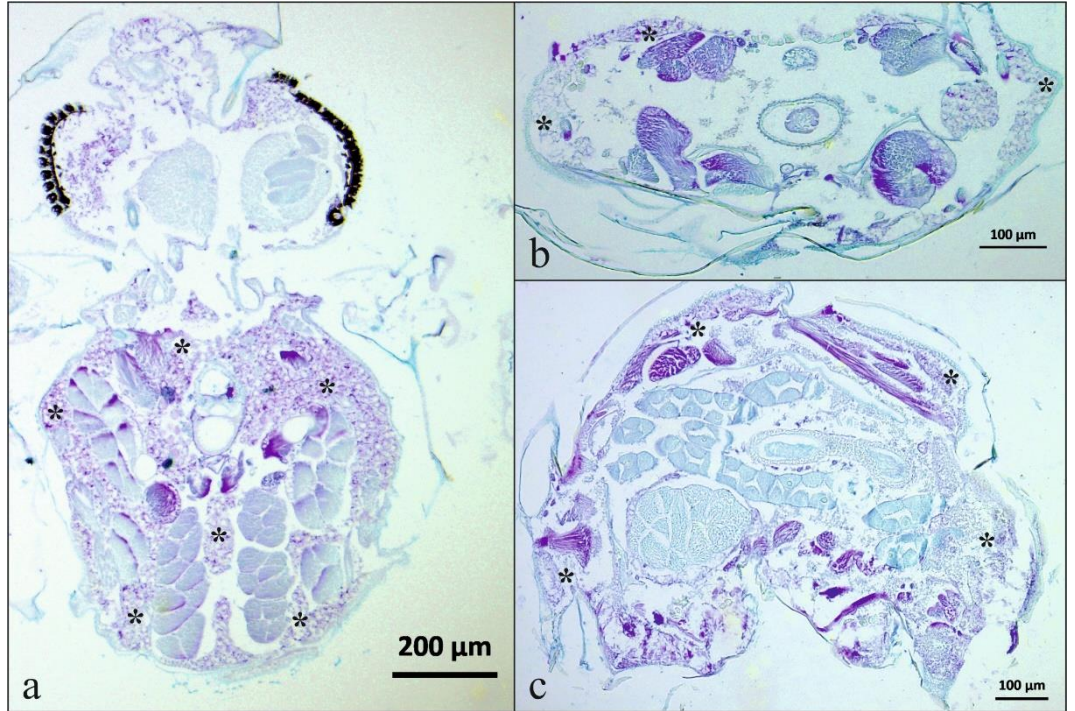
Şekil 3.8. *C. pipiens*'in geç pupa evresinin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Pollak's trikrom boyasıyla gösterimi. a) Sefalotoraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. *; trofositler.



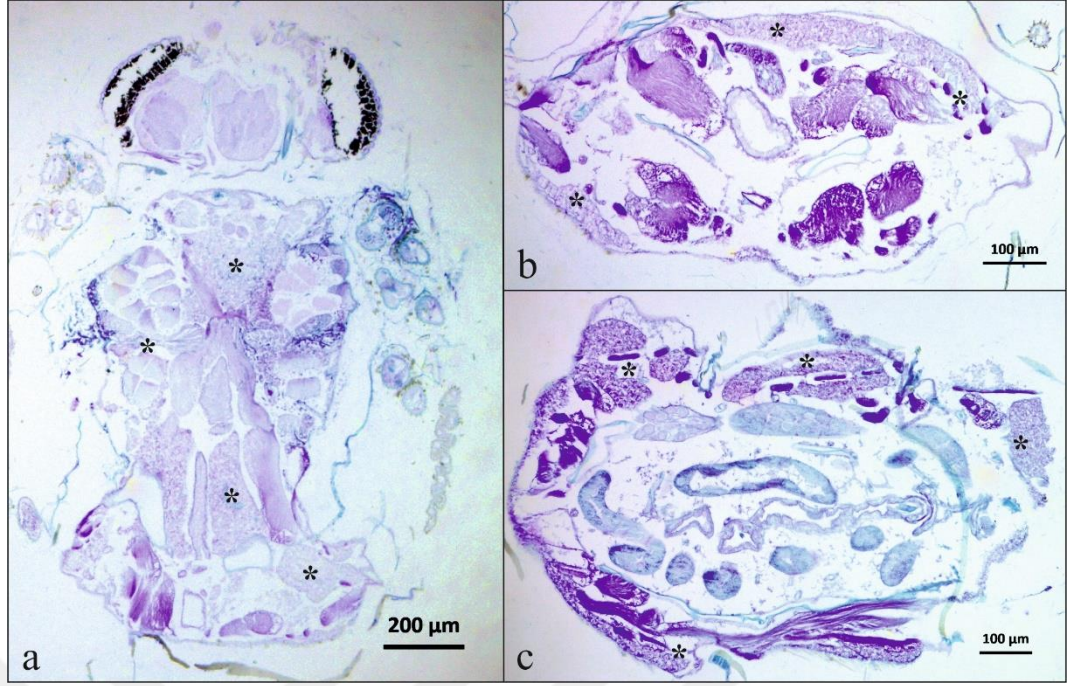
Şekil 3.9. *C. pipiens*'in ergin bireylerinin farklı bölgelerinde trofosit dağılımının Pollak's trikrom boyasıyla gösterimi. a, b, c) Dişide sırasıyla toraks, abdomen başı ve abdomen sonu, d, e, f) Erkeklerde sırasıyla toraks, abdomen başı ve abdomen sonu. *; trofositler.



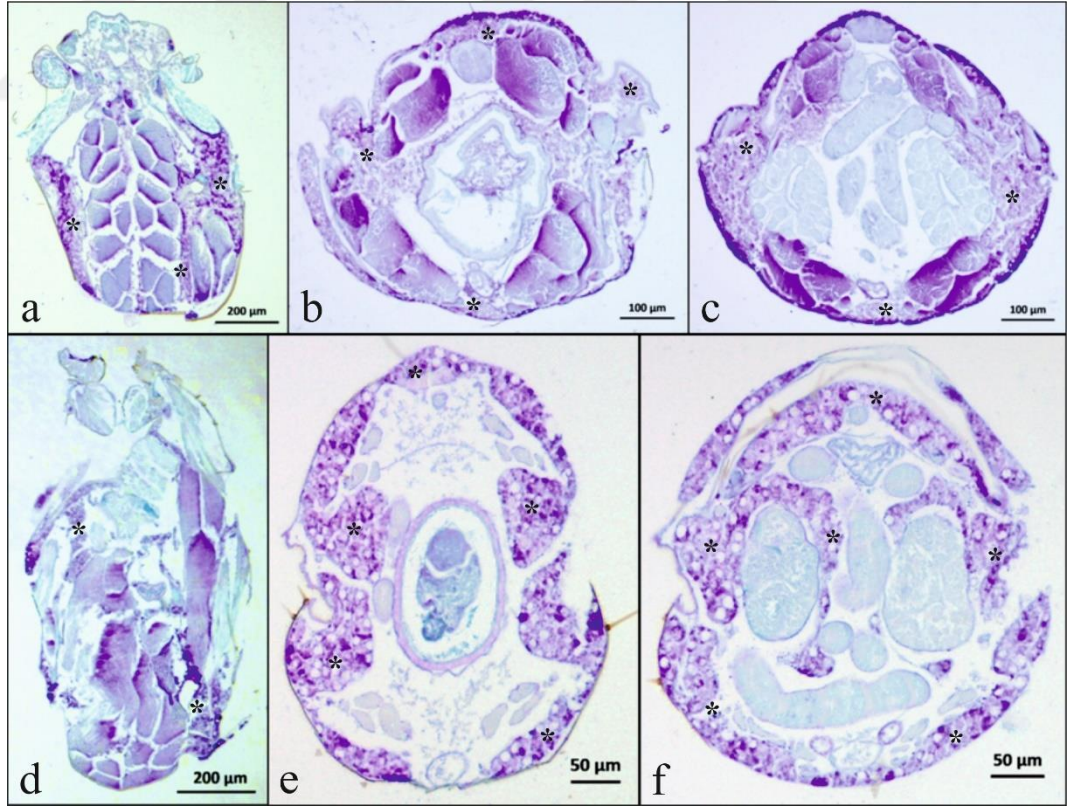
Şekil 3.10. *C. pipiens*'in 4. larval evresinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki karbonhidrat içeriğinin PAS boyasıyla gösterimi. a) Toraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. *; trofositler.



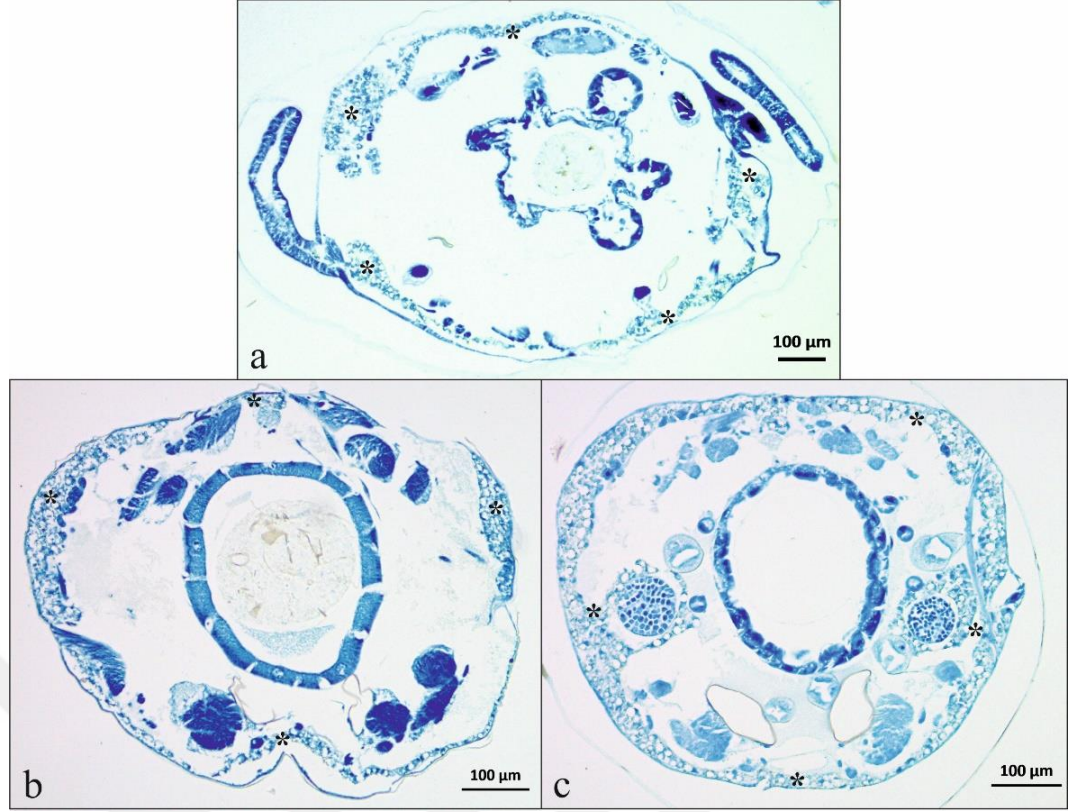
Şekil 3.11. *C. pipiens*'in erken pupa evresinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki karbonhidrat içeriğinin PAS boyasıyla gösterimi. a) Sefalotoraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. *; trofositler.



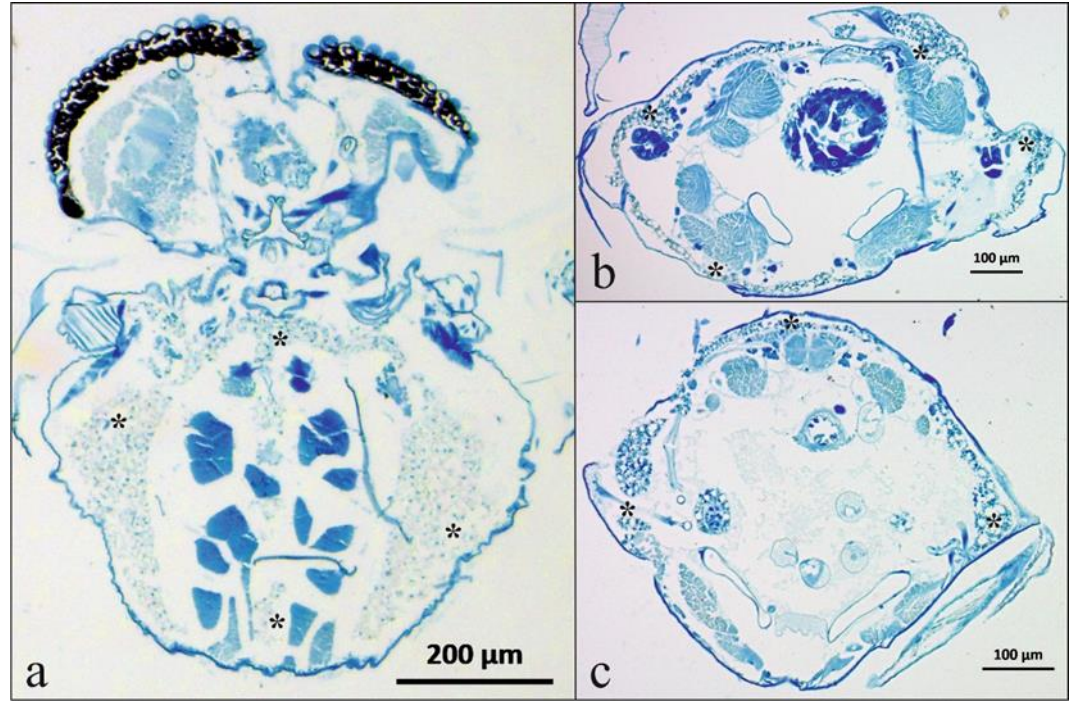
Şekil 3.12. *C. pipiens*'in geç pupa evresinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki karbonhidrat içeriğinin PAS boyasıyla gösterimi. a) Sefalotoraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. *, trofositler.



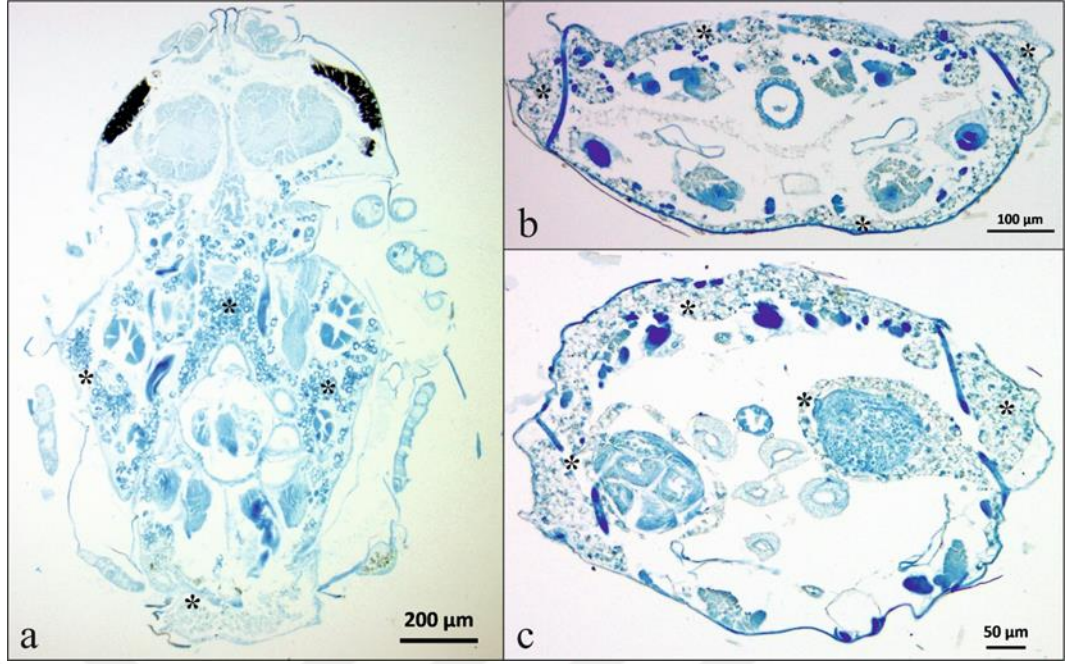
Şekil 3.13. *C. pipiens*'in ergin bireylerinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki karbonhidrat içeriğinin PAS boyasıyla gösterimi. a, b, c) Dişide sırasıyla toraks, abdomen başı ve abdomen sonu, d, e, f) Erkeklerde sırasıyla toraks, abdomen başı ve abdomen sonu. *, trofositler.



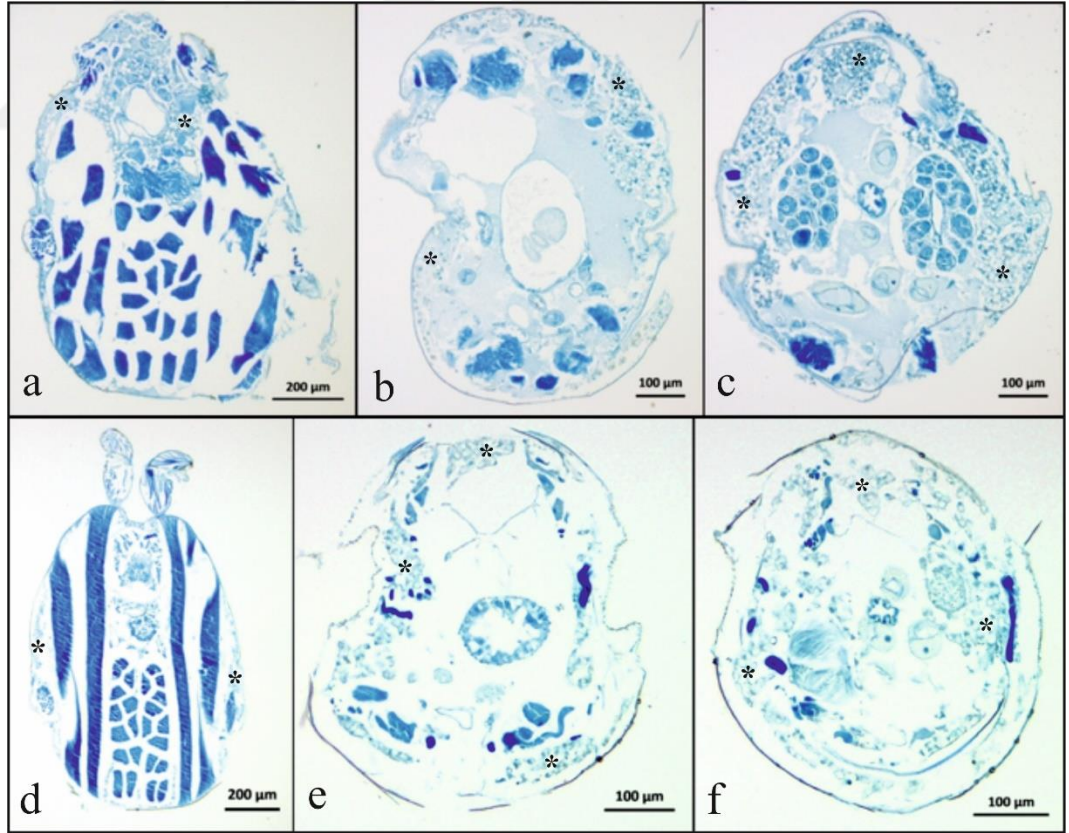
Şekil 3.14. *C. pipiens*'in 4. larval evresinin farklı bölgelerinde trofositlere ait protein granüllerinin merkürük bromofenol mavisi boyası ile gösterimi. a) Toraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. *; trofositler.



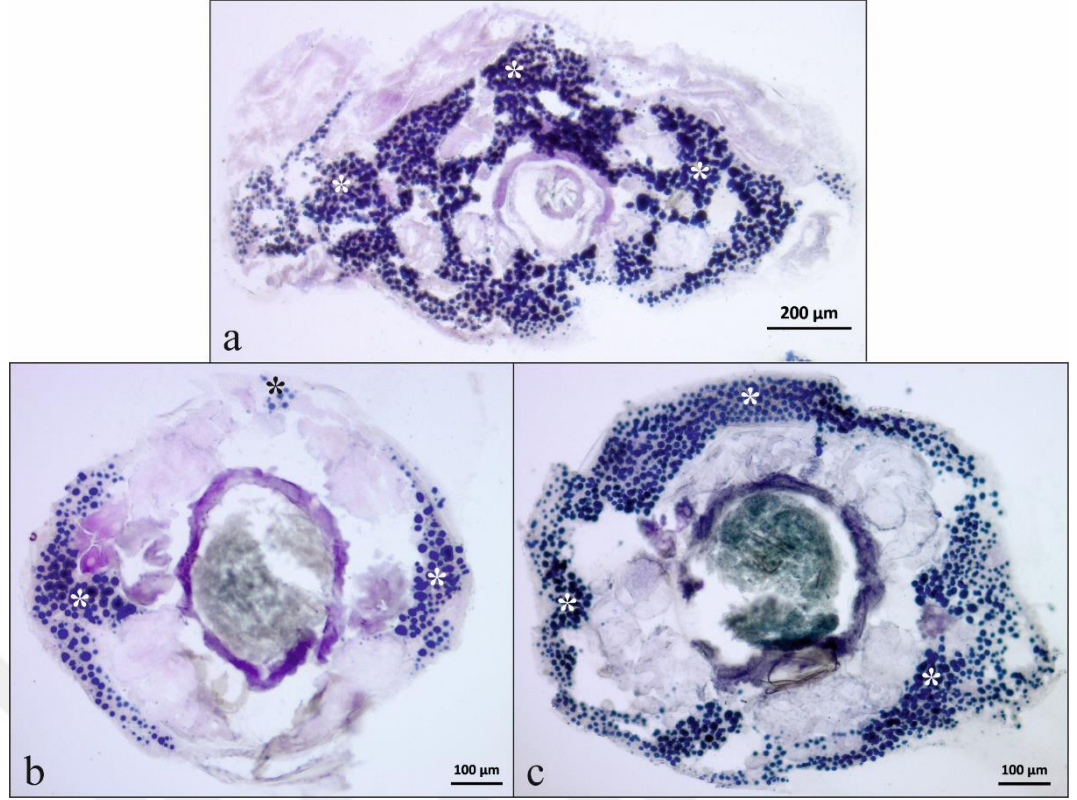
Şekil 3.15. *C. pipiens*'in erken pupa evresinin farklı bölgelerinde trofositlere ait protein granüllerinin merkürük bromofenol mavisi boyası ile gösterimi. a) Sefalotoraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. *; trofositler.



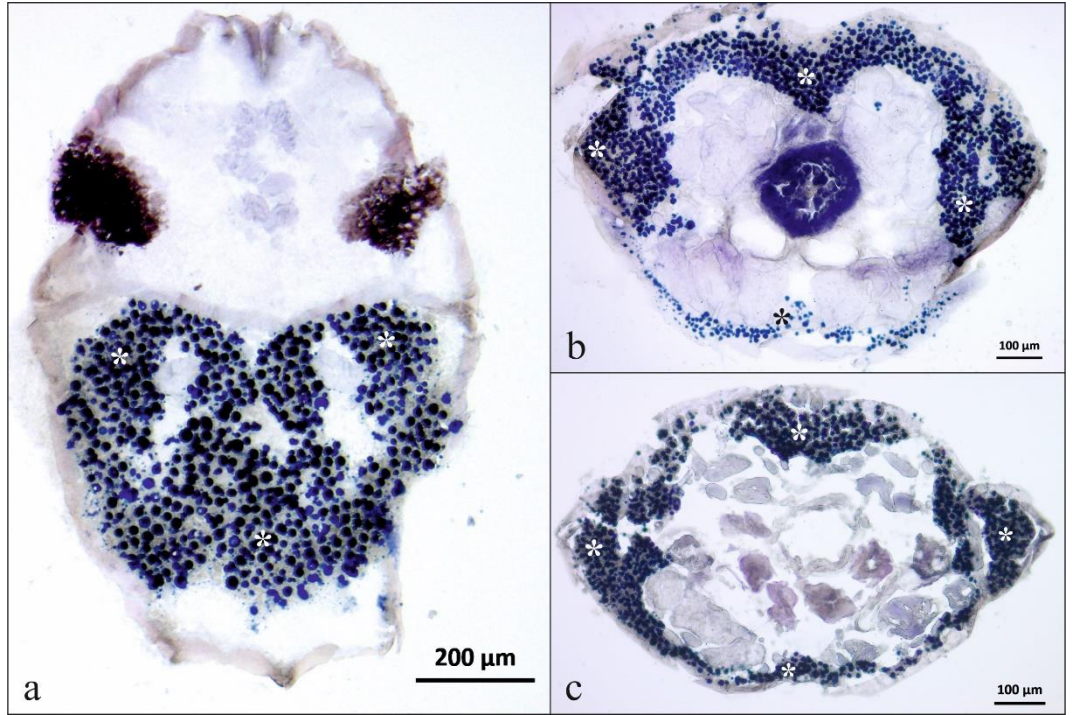
Şekil 3.16. *C. pipiens*'in geç pupa evresinin farklı bölgelerinde trofositlere ait protein granüllerinin merkürük bromofenol mavisi boyası ile gösterimi. a) Sefalotoraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. *; trofositler.



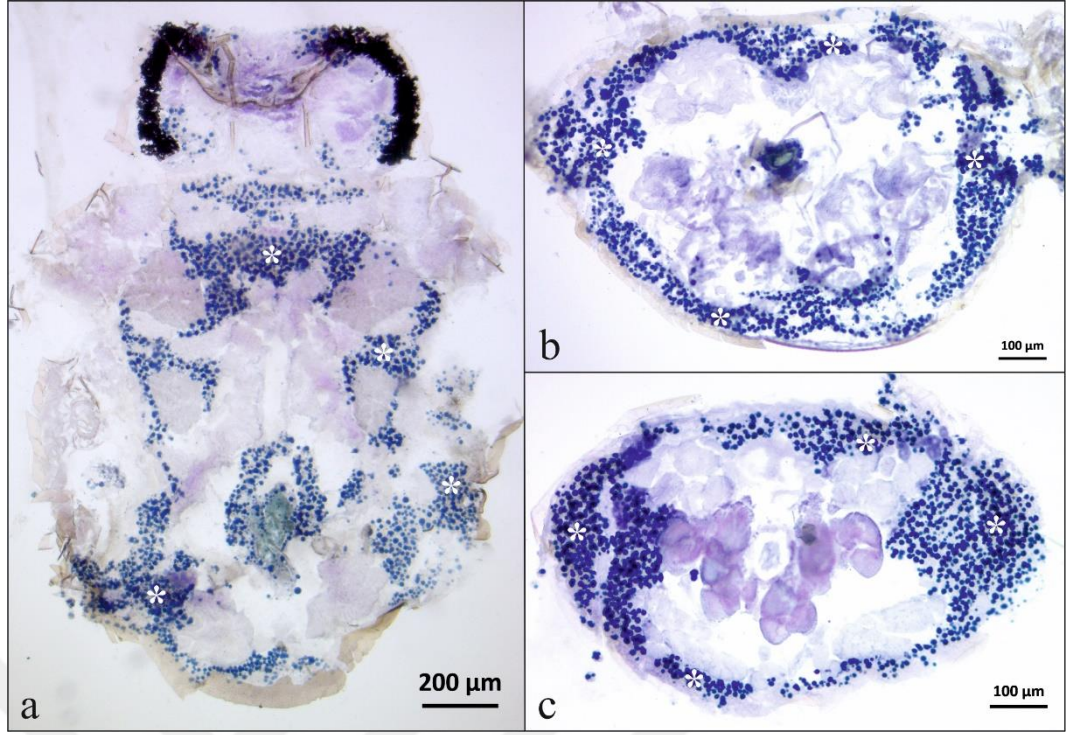
Şekil 3.17. *C. pipiens*'in ergin bireylerinin farklı bölgelerinde trofositlere ait protein granüllerinin merkürük bromofenol mavisi boyasıyla gösterimi. a, b, c) Dişide sırasıyla toraks, abdomen başı ve abdomen sonu, d, e, f) Erkekde sırasıyla toraks, abdomen başı ve abdomen sonu. *; trofositler.



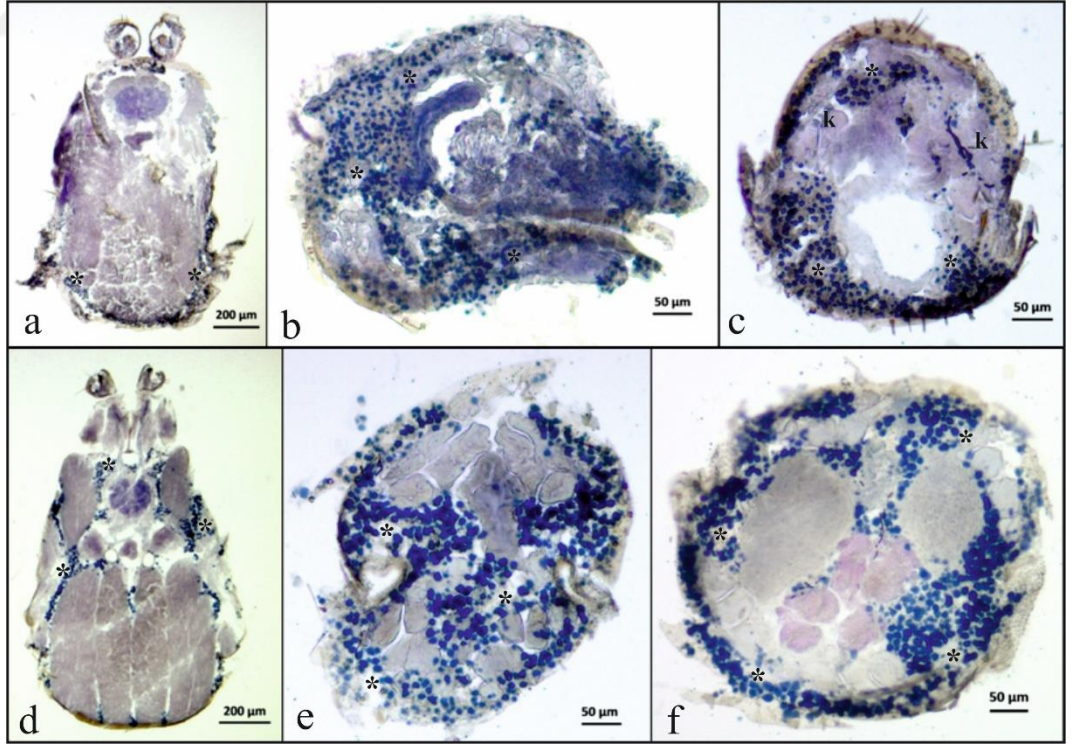
Şekil 3.18. *C. pipiens*'in 4. larval evresinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki yağ damlacıklarının Sudan black B boyasıyla gösterimi. a) Toraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. *; trofositler.



Şekil 3.19. *C. pipiens*'in erken pupa evresinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki yağ damlacıklarının Sudan black B boyasıyla gösterimi. a) Sefalotoraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. *; trofositler.



Şekil 3.20. *C. pipiens*'in geç pupa evresinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki yağ damlacıklarının Sudan black B boyasıyla gösterimi. a) Sefalotoraks, b) Abdomen başı, c) Abdomen sonu. *; trofositler.



Şekil 3.21. *C. pipiens*'in ergin bireylerinin farklı bölgelerinde trofositlerdeki yağ damlacıklarının Sudan black B boyasıyla gösterimi. a, b, c) Dişide sırasıyla toraks, abdomen başı ve abdomen sonu, d, e, f) Erkekde sırasıyla toraks, abdomen başı ve abdomen sonu. *; trofositler.

3.2. Makromoleküler Bulgular

Makromolekülleri ayırt etmeye yönelik boyalar uygulandığında *C. pipiens*'te trofositlerin üç makromolekül (karbonhidrat, protein, lipit) de içerdiği belirlenmiştir. Bunun yanında trofositlerin arasında veya bazen integümentin altında bulunan ektodermal orijinli önositlere de rastlanmıştır. Trofosit ve içeriğini daha iyi görebilmek için fotoğraflar, trofositlerin her hayvanda en yoğun olduğu bölgeler seçilip 100X büyütmede çekilmiştir. Önce genel boyalardan Mayer's Hematoksilen Eozin ve Pollak's trikrom boyaları ile hazırlanan preparatlar ele alınıp trofositlerin genel görünüşü üzerinde durulmuştur.

Trofositler, rutin boylarla boyanıp incelendiğinde ortada beyaz renkli bir yağ damlacığı ve etrafında hematoksilen eosinle açık pembe-mor renkte, pollak's trikrom ile koyu kırmızı-turuncu renkte boyanan protein granülleri tespit edilmiştir (Şekil 3.22 a ve b).

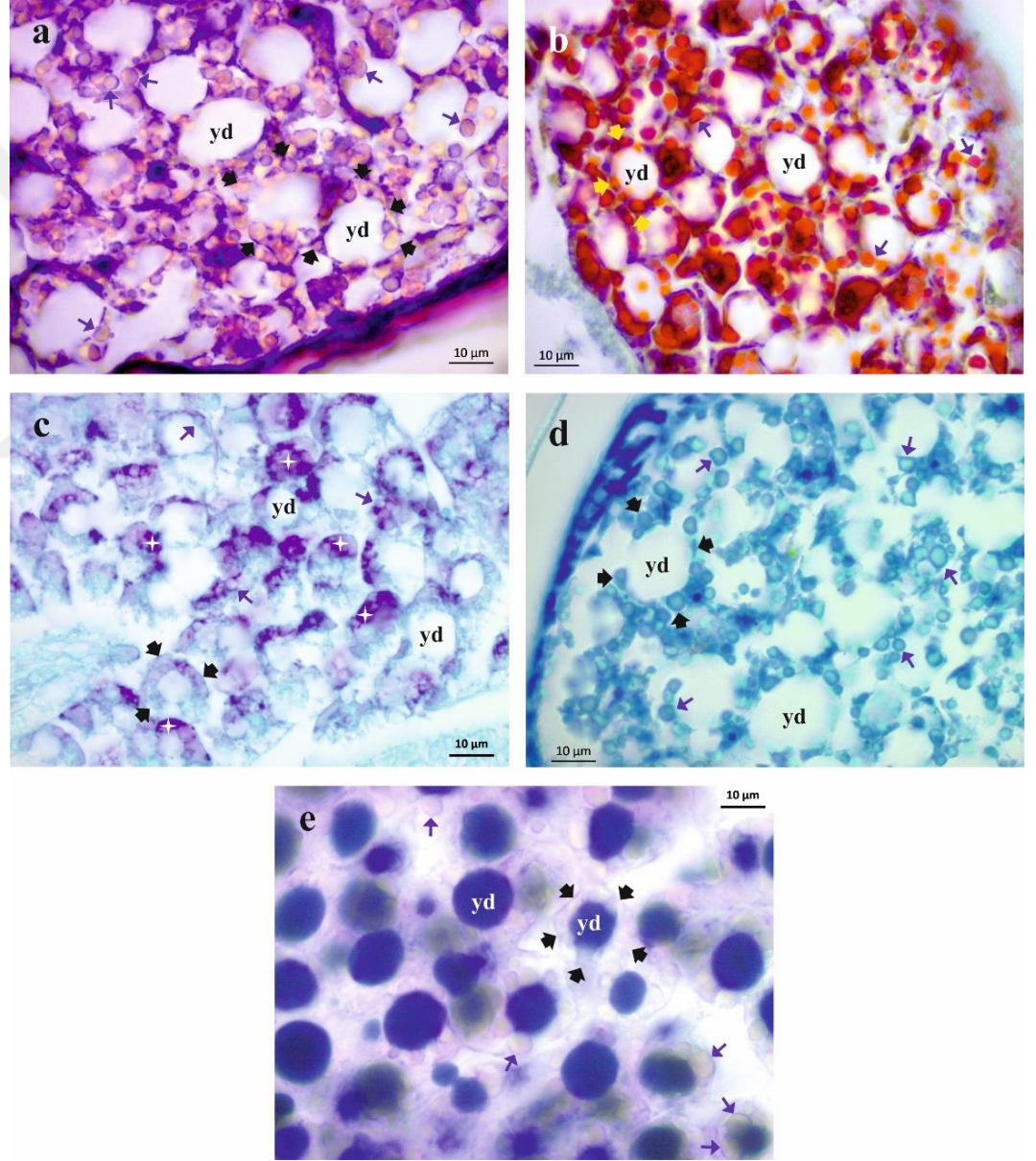
Karbonhidrat tespiti için uygulanan PAS boyaması trofositlerin sitoplazmasında glikojen içeriği için pozitif sonuç verip, protein granülleri ve yağ damlacığı için negatif sonuçlanmıştır. Glikojen içeriği mor-pembe renkte izlenip, bu içerik, yer yer küçük noktalar şeklinde görülse de bazı yerlerde fazla birikmeden kaynaklı olarak iri lekeler şeklinde izlenmiştir. Protein granülleri PAS boyasında çok açık tonda pembe ve yağ damlacığı da merkezde beyaz renkte görülmüştür (Şekil 3.22c).

Proteinleri belirlemek için kullanılan merkürük bromofenol mavisi, protein granüllerinde pozitif sonuç verirken yağ damlacığı için negatif sonuç vermiştir. Trofositin etrafını çevreleyen çeşitli boyutlardaki protein granülleri açık-koyu mavi renkte görülmüştür. Granüllerin çevrelediği merkezde ise yağ damlacığı beyaz renkli bir görünümde kalmıştır. Hücre sınırları bazı yerlerde belirgin olsa da bazı yerlerde net değildir ve buna bağlı olarak nükleus ayırımı da net olarak yapılamamıştır (Şekil 3.22d).

Yağ damlacıkları yapılan tüm boyamalarda beyaz renkte gözlense de Sudan black B boyası yağ damlacıklarını belirlemeye yönelik bir boya olduğundan pozitif sonuç vermiştir. Buna göre beklendiği gibi yağ damlacıkları siyah ve koyu mavi renkte boyanmıştır. Trofositlerin sitoplazmalarının yağ damlacığı açısından zenginliği bu boyadan sonra daha da netleşmiştir. Protein granülleri için de negatif sonuç verip, bu granüller açık pembe, sarı renkte izlenmiştir (Şekil 3.22e). Merkürük

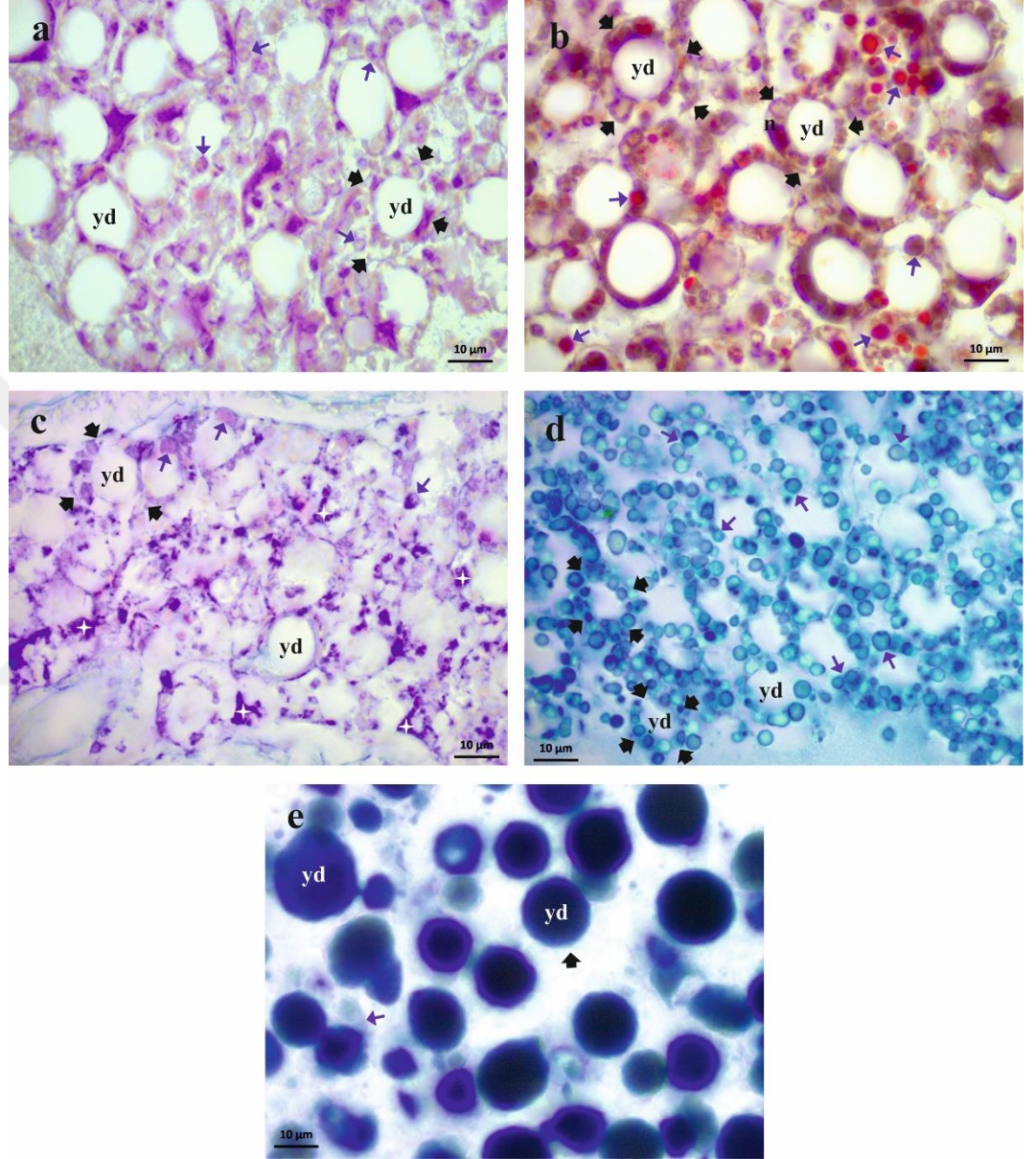
bromofenol mavisi ve Sudan black B boyamalarının üst üste çakıştırıldığı düşünülde, hücrelerdeki protein granülleri ve yağ damlacıkları organizasyonları açısından birbirini tamamlar niteliktedir (Şekil 3.22d ve e).

Larvada trofositlerin en yoğun olduğu bölge toraks olduğundan bu bölgedeki trofositlerin 5 farklı boyadaki görüntüleri ele alınmıştır. Larvadaki trofositlerin hücre sınırlarının daha belirgin olduğu ve yağ damlacıklarının iri şekilde görüldüğü tespit edilmiştir. Ayrıca Şekil 3.22a, b ve d’de protein granülleri yoğun bir şekilde görünürken, Şekil 3.22 c ve e’de gölgeler halinde gözlenmiştir.



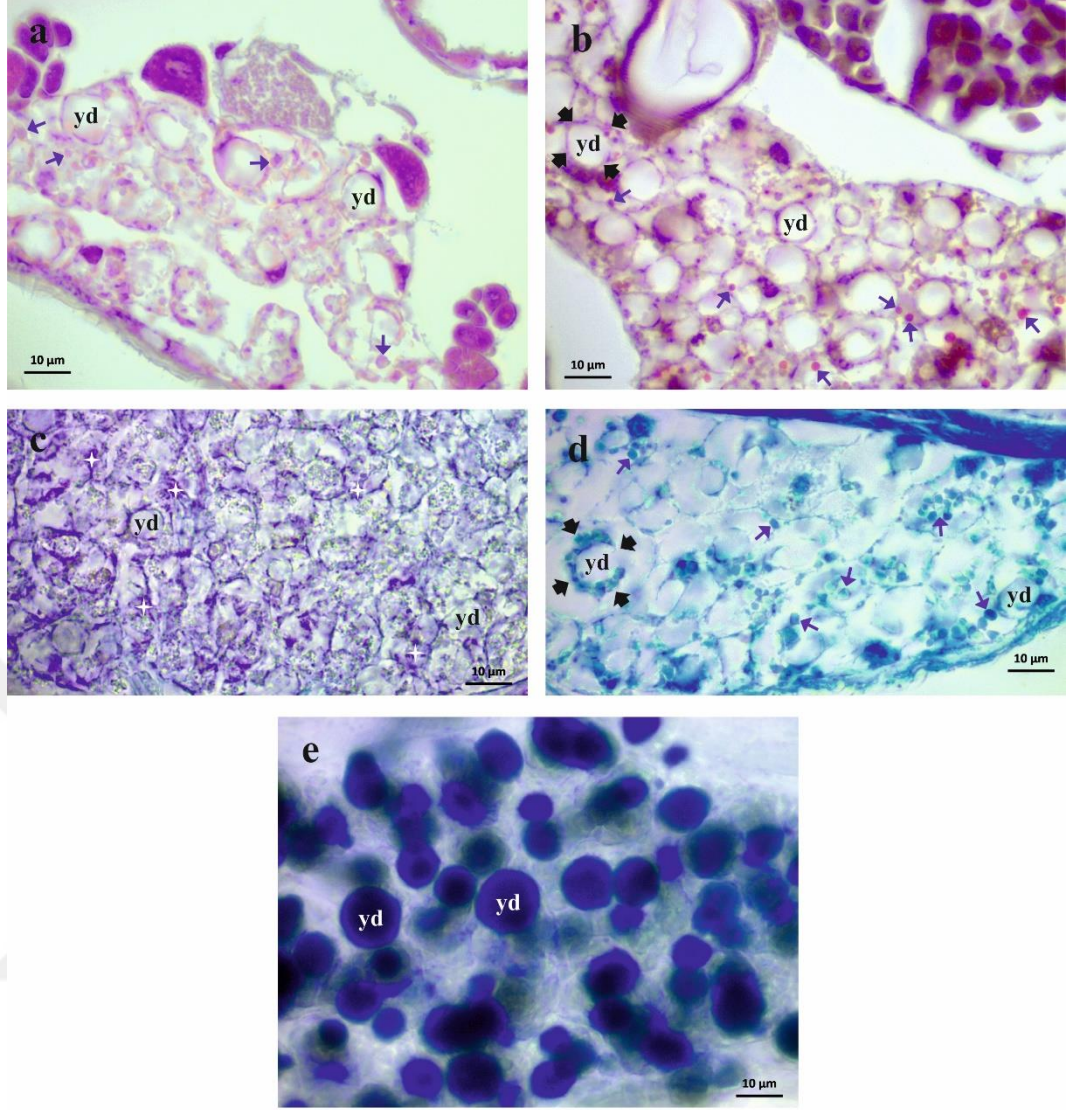
Şekil 3.22. *C. pipiens*'in larva evresinin toraks bölgesinde trofosit dağılımının farklı boyalarla gösterilmesi. a) H&E, b) Pollak's trikrom, c) PAS, d) Merkürük bromofenol mavisi, e) Sudan black B. yd; yağ damlacığı, ■; glikojen, →; protein granülü, ➤; trofosit.

Erken pupada trofositlerin en yoğun olduğu bölge olarak sefalotoraks seçilip fotoğrafları çekilmiştir. Bu evredeki yağ damlacıklarının yoğunluğu larval evreyle benzer şekildedir, proteinlerin ise larval evreden daha yoğun olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.22 ve 3.23).



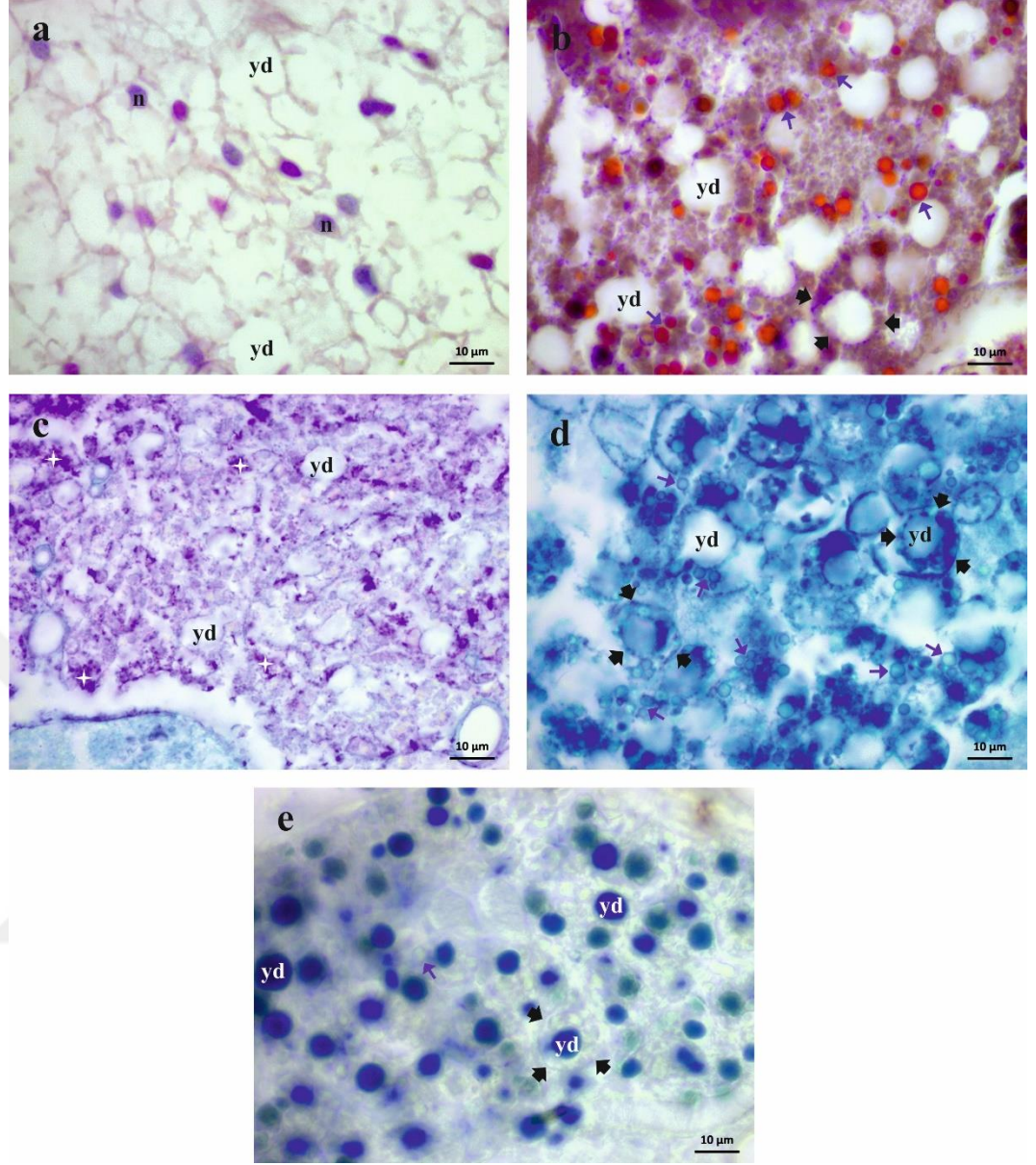
Şekil 3.23. *C. pipiens*'in erken pupa evresinin sefalotoraks bölgesinde trofosit dağılımının farklı boylarla gösterilmesi. a) H&E, b) Pollak's trikrom, c) PAS, d) Merkürük bromofenol mavisi, e) Sudan black B. yd; yağ damlacığı, +; glikojen, →; protein granülü, td; trofosit.

Geç pupada ise trofositlerin en yoğun olduğu yer abdomenin sonu olarak belirlenmiştir. Bu evredeki yağ damlacıklarının yoğunluğu erken pupa evresiyle benzer şekildedir, protein yoğunluğunun ise erken pupa evresine göre azaldığı gözlenmiştir (Şekil 3.23 ve 3.24).



Şekil 3.24. *C. pipiens*'in geç pupa evresinin abdomenin son bölgesinde trofosit dağılımının farklı boyalarla gösterilmesi. a) H&E, b) Pollak's trikrom, c) PAS, d) Merkürük bromofenol mavisi, e) Sudan black B. **yd**; yağ damlacığı, **■**; glikojen, **→**; protein granülü, **➤**; trofosit.

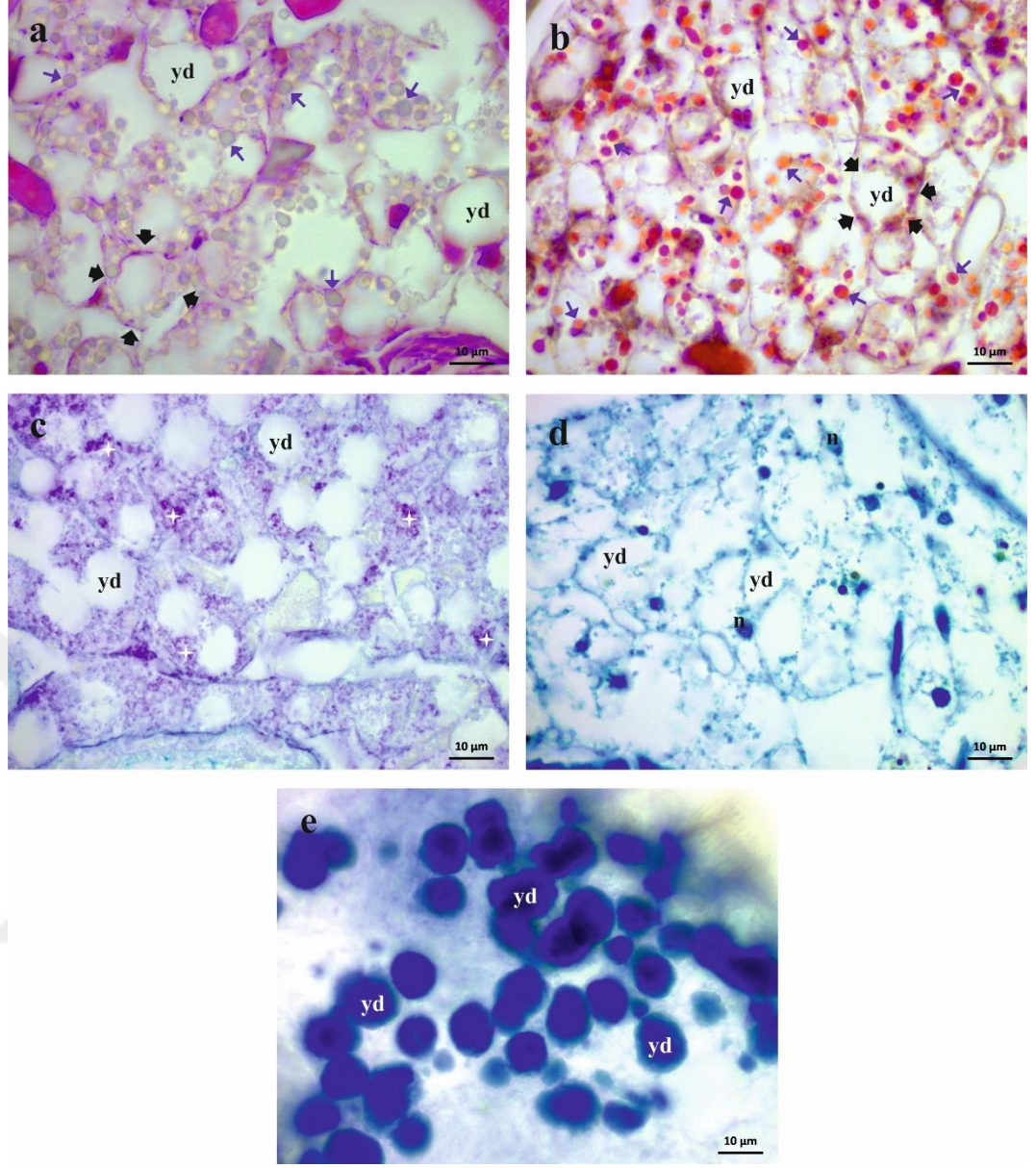
Ergin bireyler incelendiğinde erginde trofositlerin en bol bulunduğu bölgenin, geç pupayla benzer şekilde abdomenin sonu olduğu belirlenmiştir. Geç pupa ile ergin dişi karşılaştırıldığında, protein miktarının aşağı yukarı aynı kaldığı, yağ damlacığı sayısında bariz bir değişiklik olmadığı ancak damlacık boyutlarının dolayısıyla depolanan yağ miktarının erginde azaldığı gözlenmiştir (Şekil 3.24 ve 3.25).



Şekil 3.25. Ergin dişide abdomenin son bölgesinde trofosit dağılımının farklı boyalarla gösterilmesi. a) H&E, b) Pollak's trikrom, c) PAS, d) Merkürük bromofenol mavisi, e) Sudan black B. n; nukleus, yd; yağ damlacığı, +; glikojen, →; protein granülü, ⇨; trofosit.

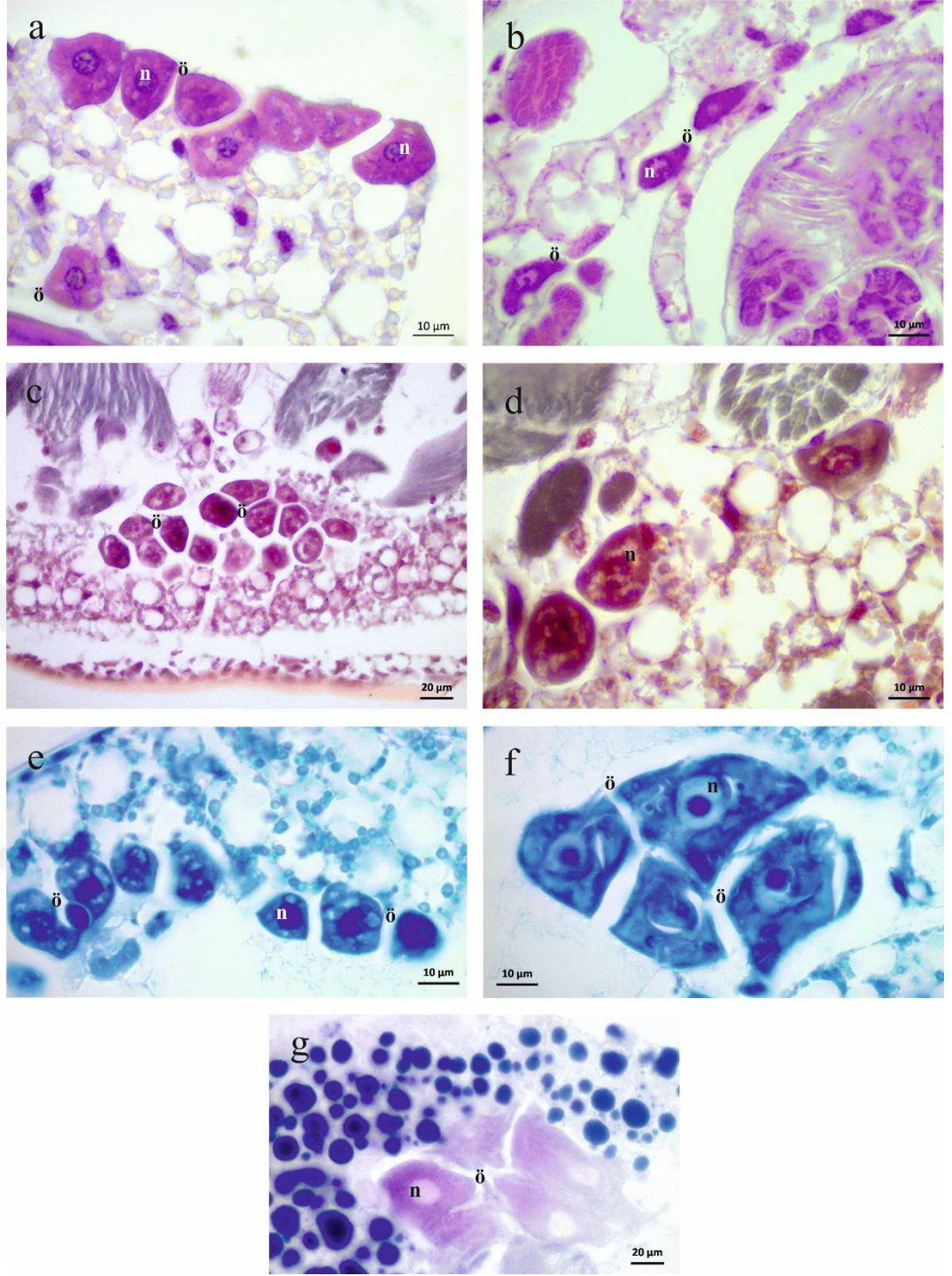
Ergin dişideki yağ damlacığı sayısında ergin erkeğe göre belirgin bir değişiklik olmadığı ancak damlacık boyutlarının dolayısıyla depolanan yağ miktarının erkeğe göre dişide azaldığı belirlenmiştir (Şekil 3.25 ve 3.26).

Önositler ise özellikle toraks ve abdomenin son bölgesinde trofositlerin arasına yayılmış olarak gözlenmiştir. Hematoksilen ile sitoplazması pembe, nukleusu ise mor renkte boyanmıştır. Bazılarında nukleolus da ayırt edilebilmektedir. Sitoplazmada yer yer beyaz renkli yağ damlacıkları olduğu da rahatlıkla görülebilmektedir (Şekil 3.27a ve b).



Şekil 3.26. Ergin erkekte abdomenin son bölgesinde trofosit dağılımının farklı boyalarla gösterilmesi. a) H&E, b) Pollak's trikrom, c) PAS, d) Merkürük bromofenol mavisi, e) Sudan black B. n; nukleus, yd; yağ damlacığı, ■; glikojen, →; protein granülü, ➔; trofosit.

Pollak's trikrom boyasında ise önositlerin sitoplazması ve nukleusları benzer şekilde kırmızı-pembe renkte boyanmıştır. Sitoplazmada yer yer küçük yağ damlacıkları ve yine nukleoluslar görülebilmektedir (Şekil 3.27c ve d). Önositler merkürük bromofenol mavisi ile de pozitif sonuç verip sitoplazmaları koyu mavi renkte boyanmıştır. Yağ damlacıklarının varlığı ise Şekil 3.27e'de belirgin şekilde görülmektedir. Nukleus sitoplazmaya göre nispeten daha açık renkte boyanmış, nukleoluslar ise özellikle Şekil 3.27f'de koyu mavi renkte izlenmektedir. Sudan black B boyası ile önosit sitoplazmasının, zıt boyası olarak kullanılan Nuklear Fast Red ile güçlü bir şekilde pembe renkte boyandığı görülmektedir (Şekil 3.27g).



Şekil 3.27. *C. pipiens*'in farklı evre ve bölgelerindeki önositlerin görünümü. a ve b) Larval evre toraks bölgesi (H&E), c) Erken pupa abdomen sonu (Pollak's trikrom), d) Larval evre toraks bölgesi (Pollak's trikrom), e ve f) Larval evre abdomen sonu (Merkürük bromofenol mavisi), g) Larval evre toraks bölgesi (Sudan black B). n; nukleus, ö; önosit.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Fat body, yoğun olarak trofositleri içerse de bu durum her böcek grubunda farklılık göstermektedir. Hymenoptera ordosuna ait *Melipona quadrifasciata* türünde fat body, trofosit ve ürositlerden oluşmaktadır (Pascini et al., 2013). Bu durum Amerikan hamamböceği olarak bilinen *Periplaneta americana*'da ve *Nauphoeta* cinsi hamamböceklerinde de aynı şekildedir (Roma et al., 2010; Park et al., 2013). Lepidoptera ordosuna ait türlerde, özellikle ipekböceği ve *Calpodes ethlius*'ta trofositlerden başka ürositlerin de varlığı bilinmektedir (Roma et al., 2010). Simuliidae ve Thaumaleidae türlerinin larvalarında ise trofositlerin yanında bir de kromatositler bulunmaktadır (Dean et al., 1985). *Culex pipiens*'in de yer aldığı Diptera ordosuna ait *Chironomus thummi*'de trofositlerine ilave olarak, hemoglobin sentezi yapan hemoglobin hücreleri de bulunurken (Bergtrom et al., 1976) *C. pipiens*'te fat body sadece trofositlerden oluşmaktadır. Benzer şekilde *Aedes aegypti*'de de fat body yalnız trofositlerden oluşmaktadır (Martins et al., 2011). *C. pipiens*'te trofositlerin sferik şekilli olması literatürdeki trofosit tanımına da uymaktadır. Aynı şekilde *A. aegypti*'de de trofositlerin sferik şekilli olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır (Martins et al., 2011).

Trofositleri, sadece yağ içermemelerine rağmen adiposit olarak da isimlendiren ve adipositlerle eşdeğer gören bazı kaynaklar vardır (Dean et al., 1985; Haunerland and Shirk, 1995; Zara and Caetano, 2004; Chapman, 2013; Park et al., 2013). Fakat bu hücreler basit anlamda lipit birikiminin yanında, kompleks metabolizma, depolama ve karbonhidrat ile protein sentezi kaynağı da olduğundan bu isimlendirmenin yanlış olduğu düşünülmektedir (Roma et al., 2010; Martins and Ramalho-Ortigão, 2012; Azeez et al., 2014).

C. pipiens'te fat body, lokasyon olarak diğer böcek gruplarında olduğu gibi, integümentin hemen altında ve bazen de vücut boşluğunda organların arasına yayılmış halde bulunmaktadır (Resh and Carde, 2009; Pascini et al., 2011; Klowden, 2013). Bu durum Diptera ordosunda yer alan *Toxorhynchites theobaldi*, *A. aegypti* (Martins et al., 2011; Pascini et al., 2011) ve bizim çalışma materyalimiz olan *C. pipiens*'te de aynıdır. Dipterlerin sadece larval evresinde görüldüğü belirlenen perivisseral fat body (Wigglesworth, 1942; Martins and Pimenta, 2008; Roma et al., 2010) *C. pipiens*'in larva evresinde toraksta ve cinsiyete bağlı olmaksızın erginde sadece abdomenin son kısmında ayırt edilmiştir. Buna karşın, *Lutzomyia longipalpis* ve *Phlebotomus papatasi*'nin erginlerinde ise sadece abdomen sonunda perivisseral fat body gözlenmiştir (Alves de Assis et al., 2014).

A. aegypti'de yapılan çalışmada (Martins and Pimenta, 2008) *C. pipiens*'te gözlemlendiğimiz aksine, perivisseral fat body ayırt edilemeyip, larvanın hangi bölgelerine bakıldığı net olmamakla birlikte sadece periferik fat body ayrımı yapılmıştır.

Holometabol böceklerde ergin bireyin biyokütlesini larval dönem belirlemektedir. Bu sebeple larval evrede besin tüketimi fazladır ve buna bağlı olarak da larva gelişimi sırasında fat body miktarında bir artış gözlenmektedir (Snodgrass, 1935; Roma et al., 2010; Pascini et al., 2011). *D. melanogaster*'de aktif beslenmenin olduğu larval gelişimin son üç günü kütleye 200 kat artış ve larval fat body de besin birikimi olduğu belirtilmiştir. Bu larval fat body'ler beslenmenin olmadığı evrelerde enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (Aguila et al., 2007; Zhang and Xi, 2014). Buna benzer olarak *C. pipiens* de larval dönemi sürekli beslenerek geçirmektedir. Öyle ki besin bulunmadığında, birbirlerini yeme durumu yani kannibalizm bile görülmektedir (Clements, 2000; Chapman, 2013). Sürekli beslenen *Culex* larvası bir sonraki evrede kullanmak üzere bu besinleri fat body'de depolamaktadır. Özellikle son larval evrede fat body miktarındaki artış sebebi bu şekilde açıklanabilir. Böceklerle ilgili yapılan diğer çalışmalarda fat body'nin genellikle abdomen bölgesinde yoğun olduğu belirtilmiştir (Roma et al., 2010). *C. pipiens*'te ise tüm evreler incelendiğinde abdomen dışında, larvanın toraks bölgesinde, erken ve geç pupanın ise sefalotoraks bölgesinde fat body'nin yoğun olduğu gözlenmiştir.

Holometabol bir böcek olan *C. pipiens*'te son larval evreden hemen sonra pupal evre başlamaktadır. Çalışmada erken ve geç pupa kullanıldığından bu iki grup ayrı ayrı incelenmiştir. Hem erken hem de geç pupa aktif olarak beslenmediği için hayatta kalmasını ve bir sonraki evreye geçmesini sağlayacak enerjiyi (yani metamorfoz için gereken enerjiyi), larval dönemde depolanan fat body'den almaktadır. Bu yüzden *C. pipiens*'te larvadan hemen sonra oluşan erken pupanın tüm bölgelerinde, özellikle sefalotoraks bölgesinin toraksa karşılık gelen kısmında, fat body'nin larvadaki kadar yoğun olduğu görülmüştür. Burada metamorfoz için bir çok enzimatik aktivite de gerçekleştiğinden vücudun enerjiye ihtiyacı vardır. Bu enerjinin de pupada devam eden larval fat body'den sağlandığı düşünülmektedir. Ayrıca literatürdeki bilgiler de holometabol böceklerin metamorfoz sırasında beslenmeyi durdurup, larval dönemde biriken besinleri enerji olarak kullandıkları yönünde olduğunu (Snodgrass, 1935; Aguila et al., 2007; Chapman, 2013) destekler niteliktedir.

Gelişim sırasında fat body'nin yapısı büyük ölçüde değişmektedir. Metamorfoz ilerledikçe larval fat body'de otofaji ve hücre ölümü görülürken, olgun progenitör hücrelerin ergin yapılarını oluşturmak için hücre proliferasyonu, farklılaşması ve organogenezi gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Bunu morfolojiye bakarak anlamak zor olup biyokimyasal analizleri de karmaşıktır (Hauerland and Shirk, 1995; Roma et al., 2010; Pascini et al., 2011). Yapılan in vitro deneylerde, fat body'nin aynı bölgelerini tekrar seçebilmenin her zaman mümkün olmadığı anlaşılmıştır (Hauerland and Shirk, 1995; Aguila et al., 2007). *A. aegypti*'de yapılan incelemeler sonucunda larval fat body'nin erginde de devam ettiği görülmüştür. Fakat Evans (1935)'a göre bazı Dipterlerde larval fat body tamamen tahrip olmaktadır (Evans, 1935; Roma et al., 2010). *D. melanogaster* için de aynı şey düşünülüp kesin bir yargıya varılamamıştır. Ergin bireylerde larval türevli fat body bulunuyor olsa da, ilerleyen zamanlarda bu hücrelerin apoptoza uğrayıp yetişkin fat body olarak tanımlanan hücreleri oluşturduğu düşünülmektedir (Aguila et al., 2007; Klowden, 2013). *C. pipiens* ise sadece histolojik olarak incelendiğinden, ilgili evrelerde bu ayrımı yapmak oldukça güç olup, buna karar verebilmek için çeşitli biyokimyasal analizlere ve ileri tekniklere ihtiyaç vardır.

C. pipiens'in erginlerinde fat body yoğunluğunda bölgesel olarak azalmalar ve artışlar belirlenmiştir. Yaptığımız incelemeler sonucunda baş bölgesinde fat body hücrelerine hiç rastlanmazken toraksta iri kas gruplarının arasında trofositler dağılmış olarak az miktarda gözlenmiştir. *A. aegypti*'de abdominal fat body dorsal, ventral ve lateral bölgelere dağılmış olup, abdomende yoğunlaşmış, iç organlara ve sinir sistemine kadar olan bölgeye doğru bir hat oluşturmuşlardır (Martins and Pimenta, 2008). *C. pipiens*'te de benzer şekilde ergindeki fat body, tamamen abdomende, özellikle de abdomenin son bölümünde yoğunlaşmış durumdadır. Daha önce de sözü edildiği üzere, literatürdeki çeşitli çalışmalardan, fat body hücrelerinin, yolk proteinlerinin sentezlenmesi ve salgılanmasında görev aldığı bilinmektedir (Hauerland and Shirk, 1995; Martins and Pimenta, 2008; Alves et al., 2010; Roma et al., 2010; Azeez et al., 2014). Bu yüzden ergin bireylerin abdomenindeki bu yoğunluğun sebebi olarak, fat body hücresi olan trofositlerin içerdiği karbonhidrat, yağ ve proteinler sayesinde üreme organlarına enerji sağlayıp özellikle dişilerde vitellogenin sentezine katıldığı anlaşılmaktadır.

Diptera ordosundan olan *T. theobaldi*'de yapılan histolojik çalışmada, trofositlerin büyük yağ damlacıkları ve protein granülleri içerdiği belirlenmiştir. Karbonhidrat içeriği ile ilgili ise bir bilgi verilmemiştir (Pascini et al., 2011). Buna benzer şekilde *C. pipiens*'te trofositler lipit ve protein içermektedir.

T. theobaldi'den farklı olarak ise glikojen içeriğine de sahip olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında *A. aegypti*'nin trofositlerinde de *C. pipiens*'e benzer şekilde protein, lipit ve karbonhidrat ayrımı yapılmıştır (Martins et al., 2011). Ayrıca *T. theobaldi*'de trofositlerin nukleusları her gelişim safhasında görülse de (Pascini et al., 2011), *C. pipiens*'te incelenen preparatlar göz önünde bulundurulduğunda nukleuslar sadece ergin dişide ve erkekte bazı bölgelerde ayırt edilebilmiştir (Şekil 3.25 ve 3.26). *C. pipiens*'te gelişim safhaları boyunca yağ damlacıklarının son larval evrenin toraks bölgesi, erken pupanın sefalotoraks bölgesi ve erginlerin de abdomen başında en yoğun olduğu, *T. theobaldi*'de trofositlerdeki yağ damlacıklarının ise bölge belirtmeksizin larval dönemde daha yoğun olduğu gösterilmiştir (Pascini et al., 2011). *C. pipiens*'te özellikle erginlere bakıldığında abdomenin son bölgesinde yağ damlacığı sayısının neredeyse aynı olmasına rağmen, dişide yağ damlacıklarının daha küçük olduğu, dolayısı ile dişilerin yağı kullandığı bulgulara Şekil 3.25e'de belirlenmiştir. Clements (2000)'e göre dişilerde yolk proteini, büyük lipoproteinleri ve küçük yağ damlacıklarını içermektedir. Bu bilgiye dayanarak, dişilerde yağın yolk gelişimi için kullanıldığı, erkeklerde ise yağ damlacıklarının sperm ya da spermatofor oluşumu için büyük ölçüde gerekmediği düşünülmektedir. Buna karşın protein granüllerinin yoğunluğu göz önünde bulundurulduğunda yağdaki durumun aksine, erkeklerde protein granülü miktarının dişiyeye göre daha fazla olduğu Şekil 3.25b, d ve 3.26a, b'de belirlendiği üzere, erkeklerin spermatofor ve sperm oluşturmak için yağdan ziyade proteinlere daha çok ihtiyaç duyduğunu ve bu yüzden protein granüllerinin sayıca fazlaştığı düşünülmektedir.

C. pipiens larvasında önositler ise, *A. aegypti* larvasına benzer şekilde daha çok periferik fat body'de özellikle integümentin 2 ya da 3 hücre kalınlığı altında gözlenmiştir (Martins and Ramalho-Ortigão, 2012). Bu durum yine Culicidae ailesine ait olan *Toxorhynchites theobaldi* larvasında benzer şekilde gözlenmiştir. Ergindeki önositler *T. theobaldi*'de, fat body'nin periferinde veya fat body loblarının içinde tek tek ya da kümelenmiş hücreler halinde görülmekteyken, *A. aegypti*'de periferik ve abdominal fat body'deki trofositlerin arasında olduğu belirtilmiştir (Pascini et al., 2011; Martins and Ramalho-Ortigão, 2012). *C. pipiens*'in erginlerindeki önosit dağılımının özellikle abdomenin sonunda olması *A. aegypti* ile daha çok benzerlik gösterirken, tek tek veya kümeler halinde, çeşitli boyutlarda olması (Şekil 3.27) ise *T. theobaldi* ile benzerlik göstermektedir (Martins and Ramalho-Ortigão, 2012). *Anopheles maculipennis* larvasında ise önositler küçük ve büyük boyutlu olarak sınıflandırılmıştır. Büyük olanlar segmental olarak düzenlenmiş kümeler halinde, küçük olanlar ise çok sayıda veya

çiftler halinde bulunabilmektedirler. Ayrıca *A. maculipennis*'te küçük boyutlu önositler büyük önositlerin oluşturduğu kümelerin her birinin yakınında veya epiderminin alt tarafında yer alabilmektedirler (Martins and Ramalho-Ortigão, 2012). Bu durum benzer şekilde *C. pipiens* larvasında da görülmüştür (Şekil 3.27).

Fat body'nin histolojisi ile ilgili daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında, *C. pipiens* türünde larva, pupa ve erginin aynı çalışmada yer almadığı tespit edilmiştir. Işık mikroskopuyla yaptığımız analizler ile *C. pipiens*'te gelişime bağlı olarak trofositlerin dağılışı ilk kez belirlenmiştir. Buna göre metamorfoz sırasında trofosit yoğunluğundaki değişim gözlemlenip, aynı zamanda histokimyasal yöntemler ile de trofositlerin içerikleri belirgin bir şekilde ortaya konulmuştur. Özet olarak, fat body en yoğun son larval evrede, erken pupanın sefalotoraksında, geç pupanın abdomen sonunda, ergin dişi ve erkekte ise yine abdomen sonunda belirlenmiştir. Fat body hücrelerinin dağılımı ve içeriklerin hangi evrelerde ve hayvanın hangi bölgelerinde yoğunlaştığını bilmenin, onun fizyolojisiyle ilgili olayları anlamada oldukça önemli olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aguila, J.R., Suszko, J., Gibbs A.G. and Hoshizaki D.K.**, 2007, The role of larval fat cells in adult *Drosophila melanogaster*, *Journal of Experimental Biology*, 210:956-963p.
- Alves de Assis, W., Malta, J., Pimenta, P. F. P., Ramalho-Ortigão, J. M. and Martins, G. F.**, 2014, The characterization of the fat bodies and oenocytes in the adult females of the sand fly vectors *Lutzomyia longipalpis* and *Phlebotomus papatasi*, *Arthropod Structure & Development*, 43:501-509p.
- Alves, S.N., Serrão, J.E. and Melo A.L.**, 2010, Alterations in the fat body and midgut of *Culex quinquefasciatus* larvae following exposure to different insecticides, *Micron*, 41:592-597p.
- Animal Diversity Web**, “*Culex pipiens*”, http://animaldiversity.org/accounts/Culex_pipiens/classification/ (Erişim tarihi: 8.05.2018).
- Araújo, H.C.R., Cavalcanti, M.G.S., Santos, S.S., Alves, L.C., and Brayner F.A.**, 2007, Hemocytes ultrastructure of *Aedes aegypti* (Diptera. Culicidae), *Micron*, 39:184-189p.
- Arrese, E.L and Soulagés, J.L.**, 2010, Insect fat body: energy, metabolism, and regulation, *Annual Review of Entomology*, 55: 207–225.
- Azeez, O.I., Meintjes, R. and Chamunorwa J.P.**, 2014, Fat body, fat pad and adipose tissues in invertebrates and vertebrates: the nexus, *Lipids in Health and Disease*, Vol: 13:71, 2p.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Madon, M., Dahl, C. and Kaiser, A.**, 2010, Mosquitoes and Their Control, Springer, New York, 577p.
- Becker, N., Jöst A. and Weitzel T.**, 2012, The *Culex pipiens* complex in Europe, *J Am Mosq Control Assoc.*, 28(4):53-67p.
- Bergtrom, G., Laufer, H., and Rogers, R.**, 1976, Fat Body: A site of hemoglobin synthesis in *Chironomus thummi* (Diptera), *The Journal of Cell Biology*, Vol 69, 264-274p.
- Bian, G., Shin, S. W., Cheon, H. M., Kokoza, V. and Raikhel, A. S.**, 2005, Transgenic alteration of Toll immune pathway in the female mosquito *Aedes aegypti*, *Proc Natl Acad Sci*, 102:13568-13573p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chapman, R. F.**, 2013, Fat body, 132-142, *The Insects: Structure and Function*, Simpson, S. J. and Douglas, A. E., (Eds), Fifth Edition, Cambridge University Press, New York, 961p.
- Clements, A. N.**, 2000, *The Biology of Mosquitoes*, 74-118, Volume 1, New York, 511p.
- Dean, R.L., Locke, M., and Collins, J.V.**, 1985, Structure of fat body, 155-210, Kerkut, G. A, and Gilbert, L.A, (Eds), *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, Volume 3, Oxford,, 248p.
- Encyclopedia of Life**, “*Culex pipiens* Northern House Mosquito Overview”, http://eol.org/pages/740671/hierarchy_entries/57359455/overview (Erişim tarihi: 14.05.2018).
- Fan, Y., Zurek, L., Dykstra, M. J. and Schal, C.**, 2003, Hydrocarbon synthesis by enzymatically dissociated oenocytes of the abdominal integument of the german cockroach *Blattella germanica*, *Naturwissenschaften*, 90:121-126p.
- Feitosa, F. M., Calvo, E., Merino, E. F., Durham, A. M., James, A. A., De Bianchi, A. G., Marinotti, O. and Capurro, M. L.**, 2006, A transcriptome analysis of the *Aedes aegypti* vitellogenic fat body, *Journal of Insect Science*, 6:1-26p.
- Furtado, W. C. A., Azevedo, D. O., Martins, G. F., Zanuncio, J. C. And Serrao, J. E.**, 2013, Histochemistry and Ultrastructure of Urocytes in the Pupae of the Stingless Bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Meliponini), *Microscopy and Microanalysis*, 19:1502-1510p.
- Gilbert, L.I. and Chino, H.**, 1974, Transport of lipits in insects, *Journal of Lipit Research*, Volume 15, 439p.
- Gillott, C.**, 2005, *Entomology*, Chapter 9-14-16, Third Edition, Netherlands, 831p.
- Hauerland, N.H., and Shirk, P.D.**, 1995, Regional and functional differentiation in the insect fat body, *Annual Review of Entomology*, 40:121-45
- Harbach, R. E.**, 2008. “*Culex* Linnaeus, 1758” <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6165> (Erişim tarihi: 6.04.2018).
- Harbach, R. E.**, 2012, *Culex Pipiens: Species Versus Species Complex – Taxonomic History andnd Perspective*, *Journal of the American Mosquito Control Association*, DOI: 10.2987/8756-971X-28.4.10

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hardstone, M. C., Leichter, C., Harrington, L. C., Kasai, S., Tomita, T. and Scott, J. G.,** 2007, Cytochrome P450 monooxygenase-mediated permethrin resistance confers limited and larval specific cross-resistance in the southern house mosquito, *Culex pipiens quinquefasciatus*, *Pesticide Biochemistry & Physiology*, 89:175-184p.
- Hsieh, Y. S. and Hsu, C. Y.,** 2011, The changes of age-related molecules in the trophocytes and fat cells of queen honeybees (*Apis mellifera*), *Apidologie*, 42(6): 728-739p.
- Humason, G.L.,** 1962, Animal Tissue Techniques, United States of America, 458p.
- Integrated Taxonomic Information System (Itis),** “*Culex pipiens* Linnaeus, 1758”,
https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=126488#null (Erişim tarihi: 7.05.2018).
- Klowden, M.J.,** 2013, Physiological Systems in Insects, University of Idaho, Third Edition, Moscow Idaho, 686 p.
- Liu, Y., Liu, H., Liu, S., Wang, S., Jiang, R.J. and Li, S.,** 2009, Hormonal and Nutritional Regulation of Insect Fat Body Development and Function, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, Vol.71, no:1 16-30p.
- Locke, M.,** 1984, The structure and development of the vacuolar system in the fat body of insects, 151-152, King, R.C., Akai, H. (Eds), *Insect Ultrastructure*, Volume 2, Plenum Press, New York, 624p.
- Lycett, G.J., McLaughlin, L.A., Ranson, H., Hemingway, J., Kafatos, F.C., Loukeris, T.G. and Paine, M.J.I.,** 2006, *Anopheles gambiae* P450 reductase is highly expressed in oenocytes and in vivo knockdown increases permethrin susceptibility, *Insect Molecular Biology*, 15(3): 321–327p.
- Makki, R., Cinnamon, E. and Gould, A. P.,** 2014, The development and functions of oenocytes, *Annual Review of Entomology*, 59:405-425p.
- Martins, G.F., and Pimenta, P.F.P.,** 2008, Structural changes in fat body of *Aedes aegypti* caused by aging and blood feeding, *Journal of Medical Entomology*, 45(6): 1102-1107p.
- Martins, G.F. and Ramalho-Ortigão, J.M.,** 2012, Oenocytes in insects, *Invertebrate Survival Journal*, 9:139-152p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Martins, G.F., Serrão, J.E., Ramalho-Ortigão, J.M., and Pimenta, P.F.P.,** 2011, A comparative study of fat body morphology in five mosquito species, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106(6):742-747p.
- Maurizii, M.G., Mazzini, M. and Giorgi, F.,** 1992, Structural modifications of the fat body in the stick insect *Bacillus rossius* during larval development, *Italian Journal of Zoology*, Vol.59, 387-394p.
- Mosquito Taxonomy Inventory,** “Culicidae”, <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6045> (erişim tarihi: 05.02.2018).
- Nation, J. L.,** 2008, Insect Physiology and Biochemistry, 30-117, Second Edition, New York, 564p.
- Nazni, W. A., Lee, H.L. and Azahari, A. H.,** 2005, Adult and larval insecticide susceptibility status of *Culex quinquefasciatus* (Say) mosquitoes in Kuala Lumpur Malaysia, *Tropical Biomedicine*, 22(1):63-68p.
- Norris, L. C and Norris, D. E.,** 2011, Insecticide resistance in *Culex quinquefasciatus* mosquitoes after the introduction of insecticide-treated bed nets in Macha, Zambia, *Journal of Vector Ecology*, vol 36(2):411-420p.
- Papamoia Pines Medical Centre,** “Zika virus - what you need to know” <http://papamoapines.co.nz/news/zika-virus-what-you-need-know/> (Erişim tarihi: 09.08.2018).
- Park, M. S., Park, P. and Takeda, M.,** 2013, Roles of fat body trophocytes, mycetocytes and urocytes in the American cockroach, *Periplaneta americana* under starvation conditions: an ultrastructural study, *Arthropod Structure and Development*, 42:287-295p.
- Pascini, T.V., Albeny, D.S., Ramalho-Ortigão, M., Vilela, E.F., Serrão, J.S., and Martins, G.F.,** 2011, Changes in the Fat Body during the Post-Embryonic Development of the Predator *Toxorhynchites theobaldi* (Dyar & Knab) (Diptera: Culicidae), *Neotropical Entomology*, Vol 40(4):456-461pp.
- Resh, V.H. and Cardé, R.T.,** 2009, Encyclopedia of Insects, 356-357, Second Edition, China, 1169p.
- Roma, G.C., Bueno, O.C., and Camargo-Mathias, M.I.,** 2010, Morphophysiological analyses of the insect fat body: A review, *Micron*, 41:395-401p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

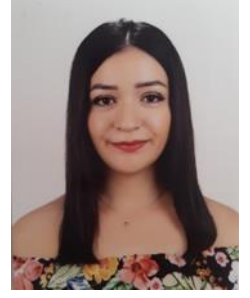
- Scott, J. G., Yoshimizu, M. H. and Kasai, S.,** 2015, prethroid resistance in *Culex pipiens* mosquitoes, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 120(68):6p.
- Shukla, E., Thorat, L. J., Nath, B. B. and Gaikwad, S. M.,** 2015, Insect trehalase: Physiological significance and potential applications, *Glycobiology*, 25(4):357-367p.
- Snodgrass, R. E.,** 1935, Principles Of Insect Morphology, First Edition, Mc Grow Hill Book Company, New York, 667p.
- Strickman, D. and Fonseca, D. M.,** 2012, Autogeny in *Culex pipiens* complex mosquitoes from the San Francisco bay area, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 87(4): 719–72p.
- Taskin, B. G., Dogaroglu, T., Kilic, S., Dogac, and E., Taskin, V.,** 2016, Seasonal dynamics of insecticide resistance, multiple resistance, and morphometric variation in field populations of *Culex pipiens*, *Pesticide Biochemistry & Physiology*, 129:14-27p.
- The American Mosquito Control Association (AMCA),** “Life Cycle”, <https://www.mosquito.org/general/custom.asp?page=lifecycle> (Erişim tarihi: 14.05.2018).
- Turell, M.J.,** 2012, Members of the *Culex pipiens* Complex as Vectors of Viruses, *Journal of the American Mosquito Control Association*, 28(4):123-126p.
- UniProt,** “Taxonomy - *Culex pipiens* (House mosquito)”, <http://www.uniprot.org/taxonomy/7175> (Erişim tarihi: 9.04.2018).
- University of Florida,** “Mosquito Biology”, http://mosquito.ifas.ufl.edu/Documents/Mosquito_Biology.pdf (Erişim tarihi: 05.02.2018).
- University of Rochester Medical Center,** “Sudan black B For Phospholipits in Paraffin Sections and Fats in Frozen Sections” (<https://www.urmc.rochester.edu/urmc-labs/pathology/stainsmanual/index.html?SUDANBLACKBFORPHOSPHOLİPİTSINPARAFFINSECTIONSANDFATSINFROZENSECTIONS>), (erişim tarihi: 03.10.2017).
- Vilmos, P. and Kurucz, E.,** 1998, Insect immunity: evolutionary roots of the mammalian innate immune system, *Immunol Lett.*, 62:59-66p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wicker-Thomas, C., Guenachi I. and Keita Y.F.**, 2009, Contribution of oenocytes and pheromones to courtship behaviour in *Drosophila*, *BMC Biochemistry*, 10:21p.
- Wigglesworth V. B.**, 1942, The storage of protein, fat, glycogen and uric acid in the body and other tissues of mosquito larvae, *Journal of Experimental Biology*, 19:56-77p.
- Yuan, J. Z., Li, Q. F., Huang, J. B. and Gao, J. F.**, 2015, Effect of chlorfenapyr on cypermethrin-resistant *Culex pipiens pallens* Coq mosquitoes, *Acta Tropica*, 143:13-17p.
- Zara, F. J. and Caetano, F. H.**, 2004, Ultramorphology and histochemistry of fat body cells from last Instar larval of the *Pachycondyla* (= *Neoponera*) *villosa* (Fabricius) (Formicidae: Ponerinae), *Brazilian Journal of Biology*, 64(3B):725-735p.
- Zhao, M., Dong, Y., Ran, X., Guo, X., Xing, D., Zhang, Y., Yan, T., Zhu, X., Su, J., Zhang, H., Wang, G., Hou, W., Wu, Z., Li, C. and Zhao, T.**, 2014, Sodium channel point mutations associated with pyrethroid resistance in Chinese strains of *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), *Parasites & Vectors*, 7:369p.
- Zhang, Y. and Xi, Y.**, 2014, Fat body development and its function in energy storage and nutrient sensing in *Drosophila melanogaster*, *Journal of Tissue Science & Engineering*, Vol 6(1):1-8p.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mehtap Gülmez
Doğum Yeri ve Yılı : KKTC/Lefkoşa 22.09.1994
Elektronik Posta : mehtapg.3535@gmail.com
Cep Telefon : 05338243422
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce



Öğrenim Durumu

İlkokul : Alayköy İlkokulu (KKTC)
Ortaokul : Bayraktar Türk Maarif Koleji (KKTC)
Lise : Bülent Ecevit Anadolu Lisesi (KKTC)
Üniversite : Ege Üniversitesi / Biyoloji Bölümü (İzmir)

Bilimsel Aktiviteler

- Gülmez M, Turgay İzzetoğlu G, Yıkılmaz MS, *Culex pipiens*'te Fat Body Hücrelerinin Farklı Histokimyasal Teknikler Kullanılarak Gösterilmesi, IV. International Congress for Applied Biological Sciences, 3-5 Mayıs 2018, Eskişehir.
- Turgay İzzetoğlu, G. and Gülmez, M., 2018, Macroscopic and Histological Structures of Testes in Three Different Tentyria Species, *KSU J. Agric Nat* 21(3):433-437p.
- EGEKÖK “Kök Hücre Öğrenci Sempozyumu II” 16 Nisan 2016, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir