

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Pieris brassicae (LEPIDOPTERA: PIERIDAE) LARVA VE ERGİNLERİNDE
SİNDİRİM SİSTEMİNİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPU DÜZEYİNDE
HİSTOLOJİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI

HÜLYA BULUT

DOKTORA TEZİ

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Pieris brassicae (LEPIDOPTERA: PIERIDAE) LARVA VE ERGİNLERİNDE
SİNDİRİM SİSTEMİNİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBU
DÜZEYİNDE
HİSTOLOJİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI

HÜLYA BULUT

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SAMSUN
2017

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Hülya BULUT tarafından hazırlanan “*Pieris brassicae* (Lepidoptera: Pieridae) Larva ve Erginlerinde Sindirim Sisteminin Işık ve Elektron Mikroskobu Düzeyinde Histolojik Olarak Karşılaştırılması” adlı tez çalışması .../.../2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman Yrd. Doç. Dr. Banu EREN
Biyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri

Başkan Prof. Dr. Ünal ZEYBEKOĞLU
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Biyoloji Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Filiz KARAGÖZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Patoloji Anabilim Dalı

Üye Doç. Dr. Zülal ŞEKEROĞLU
Ordu Üniversitesi
Biyoloji Anabilim Dalı

Üye Yrd. Doç. Dr. Murat KARAVİN
Amasya Üniversitesi
Biyoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım. .../.../2017

Prof. Dr. Bahtiyar ÖZTÜRK

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.



05.05.2017

Hülya Bulut

ÖZET

Doktora Tezi

Pieris brassicae (LEPIDOPTERA: PIERIDAE) LARVA VE ERGİNLERİNDE
SİNDİRİM SİSTEMİNİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBU DÜZEYİNDE
HİSTOLOJİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI

Hülya Bulut

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Banu Eren

Ülkemizde “Büyük beyaz melek” olarak bilinen *Pieris brassicae*, Pieridae (Ordo: Lepidoptera) familyasına ait yaygın bir türdür. Yaşam döngüsü sırasında, başkalaşım geçirdiğinden dolayı larva ve ergin arasında anatomik, morfolojik, davranış vb. açıdan farklılıklar göze çarpmaktadır. Beslenme şekli de bu farklılıklardan biridir. *Pieris brassicae* larvaları çiğneyici ağız tipine sahip oldukları için yaprak yüzeyini oymak suretiyle beslenmekte ve bazı Cruciferae türleri üzerinde büyük zararlar yapmaktadır. Erginler ise delici emici ağızdaki hortum şeklindeki proboscisleri ile bitki özsuynunu besin olarak kullanmaktadır. Bu çalışma, beslenme şeklindeki farklılığının *Pieris brassicae* (Lepidoptera: Pieridae) larva ve erginlerinde sindirim sisteminde farklılık oluşturup oluşturmadığını ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde histolojik olarak belirlemek amacıyla yapılmıştır. Larva ve ergin bireylerden alınan sindirim kanalı kesitleri ışık mikroskobik incelemeler için %10'luk tamponlanmış formalin, elektron mikroskobu incelemeleri için %2.5'luk gluteraldehit ile tespit edildi. Işık mikroskobu incelemelerinde rutin histolojik takipler sonucunda hazırlanan preparatlar hematoksilen-eozin ile boyandıktan sonra, ortabağırsağın genel görünümü, ayrıca epitel hücre yüksekliği, epitel hücre sayısı ve goblet hücresi sayısı yapılan ölçüm ve sayımlarla değerlendirilmiştir. Veriler SPSS 23 paket programı ile istatistiksel olarak hesaplanmıştır. Mitokondriler, endoplazmik retikulum ve mikrovilluslar elektron mikroskobunda değerlendirilmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda, larva ve erginler arasında epitel hücresi sayısı ve epitel hücre yüksekliği açısından anlamlı bir farklılık olduğu bulunmuştur. Bu nedenle *Pieris brassicae* larva ve ergin bireylerinde görülen beslenme farklılığının sindirim kanalında histolojik değişikliklere yol açtığı sonucuna varılmıştır.

Mayıs 2017, 81 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Pieris brassicae*, Pieridae, Lepidoptera, Sindirim Sistemi, Histoloji

ABSTRACT

Doctoral Dissertation

HISTOLOGICAL COMPARISON OF DIGESTIVE SYSTEM USING LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPES IN LARVA AND ADULTS OF *Pieris brassicae* (LEPIDOPTERA: PIERIDAE)

Hülya Bulut

Ondokuz Mayıs University

Graduate School of Sciences

Department of Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Banu Eren

Pieris brassicae commonly known as “Large White”, is a widespread species of Pieridae (Ordo: Lepidoptera) family. During the life cycle, because of metamorphosis, there are anatomical, morphological, behavioral, etc. differences between larva and adult. Nutrition is also one of the differences. *Pieris brassicae* are fed by carving the surface of the leaves because they have the biting-chewing mouth type, and they cause great damage to some Cruciferae species. Adults are fed by nectar using their proboscis. This study aimed to determine if nutritional differences in *Pieris brassicae* (Lepidoptera: Pieridae) larvae and adults make histologically differences in the digestive system at light and electron microscopic level. Larva and adult digestive tract, were fixed with 10% buffered formalin for light microscopic examinations and 2.5% gluteraldehyde for electron microscopic examinations. After routine histological procedure, sections stained with hematoxylen-eosin and the general view of the midgut examined, epithelial cell height measured and epithelial cell and goblet cell number counted in light microscope for morphologic evaluations examinations. SPSS 23 software programs were used for statistical analysis. Mitochondria, endoplasmic reticulum and microvilli were considered after electron microscopic observations. As a result of our investigation, we found that there is a significant difference between the number of epithelial cells and the height of epithelial cells between larvae and adults. Therefore, it is concluded that this is the result of nutritional differences of *Pieris brassicae* larva and adult and leads to the histological changes in the digestive tract

May 2017, 81 pages

Key Words: *Pieris brassicae*, Pieridae, Lepidoptera, Digestive system, Histology

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamda ilgi ve desteğini esirgemeyen, her zaman yanımda olan, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam, Genel Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Banu EREN'e öncelikle teşekkür etmek isterim.

Tez konusunun belirlenmesinde değerli fikirleri ile yol gösteren Sayın Prof. Dr. Adem GÜLEL'e, desteklerini hep gösteren Tez İzleme Komitesi'nde yer alan hocalarım Sayın Prof. Dr. Ünal ZEYBEKOĞLU'na ve Sayın Prof. Dr. Filiz KARAGÖZ'e, desteğini her zaman hissettiğim Sayın Prof. Dr. Zafer EREN'e yürekten teşekkür ediyorum.

Yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Biyoloji Bölüm Başkanımız değerli hocam Sayın Prof. Dr. Nazmi POLAT'a ve beni gönülden destekleyen Biyoloji Bölüm sekreterimiz Sevgili Hatice ÖZDEMİR'e çok teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında yardım ve desteklerini esirgemeyen Araştırma Görevlisi Dr. Sevcin MERCAN, Öğretim Görevlisi Dr. Burcu DEMİREL ve Histoloji Araştırma Laboratuvarı'nda çalışan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmamın en başından en sonuna kadar, her zaman maddi ve manevi destek sağlayan, en büyük destekçim olan, başta babam Osman BULUT olmak üzere, canım aileme minnet ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu tez çalışması, **PYO. FEN.1904.11.013** nolu Bilimsel Araştırma Projesi olarak Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

Mayıs 2017, Samsun

Hülya Bulut

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2. 1. Sistematikteki Yeri	3
2.1.1. Ordo: Lepidoptera	3
2.1.2. Familya: Pieridae.....	4
2.1.3. Tür tanımı	5
2. 2. Ekolojisi	5
2. 3. Zoocoğrafik Dağılışı	7
2. 4. Yaşam Döngüsü	7
2. 5. Morfolojisi	8
2.5.1. Sindirim kanalı	8
2.5.1.1. Larval yapı.....	9
2.5.1.1.1. Önbağırsak	11
2.5.1.1.2. Ortabağırsak.....	12
2.5.1.1.3. Arkabağırsak.....	14
2.5.1.1.3.1. Pilor	14
2.5.1.1.3.2. İleo-kolon (İleum)	15
2.5.1.1.3.3. Rektum.....	15
2.5.1.1.4. Peritrofik zar	15
2.5.1.1.5. Fonksiyon	16
2.5.1.1.6. Büyüme, yenilenme ve metamorfoz	17
2.5.1.2. Sindirim sistemi - Ergin.....	17
2.5.1.2.1. Önbağırsak	17
2.5.1.2.2. Ortabağırsak.....	18
2.5.1.2.3. Arkabağırsak.....	19
2.5.1.2.3.1. Pilor	20
2.5.1.2.3.2. İleo-kolon (İleum)	20
2.5.1.2.3.3. Rektum.....	21

3. MATERYAL VE YÖNTEM	22
3. 1. Örneklerin Toplanması ve Yetiştirilmesi	22
3. 2. Örneklerin Diseksiyonu	23
3.3. Çalışmada Kullanılan Aletler	24
3.4. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	24
3.5. Doku Takip İşlemi	25
3.5.1. Işık mikroskobu için örneklerin hazırlanması	25
3.5.1.1. %10'luk tamponlanmış nötral formalin hazırlanması	25
3.5.1.2. Parafine gömme işlemi	25
3.5.1.3. Örneklerden kesit alınması	26
3.5.1.4. Örneklerin boyanması	27
3.5.2. Transmisyon elektron mikroskobu için örneklerin hazırlanması	31
3.5.2.1. Fiksasyon ve post fiksasyon	31
3.5.2.2. Dehidratasyon	31
3.5.2.3. Dokuların araldit resin içerisine gömülmesi	32
3.6. İstatistiksel Analizler	33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	34
4.1. Mikroskobik Bulgular	35
4.2. Morfometrik Bulgular	49
4.2.1. Epitel yüksekliği ile ilgili bulgular	49
4.2.2. Epitel hücresi sayısı ile ilgili bulgular	52
4.2.3. Goblet hücresi sayısı ile ilgili bulgular	55
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR	64
ÖZGEÇMİŞ	68

SİMGELER VE KISALTMALAR

KISALTMALAR

GÜM: Gümüşleme

HE: Hematoksilen Eozin boyama

PAS: Periyodik Asit Schiff boyama

TEM: Transmisyon Elektron Mikroskobu

TRI: Masson'un üçlü boyaması



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1.	Lepidoptera genel görünümü.....	4
Şekil 2. 2.	<i>Pieris brassicae</i> genel görünüm	6
Şekil 2. 3.	Sindirim sistemi genel görünümü.....	9
Şekil 2. 4.	<i>Pieris rapae</i> larva ön kısım boyuna kesit	10
Şekil 2. 5.	<i>Pieris brassicae</i> ergin sindirim sisteminin genel görünümü	18
Şekil 2. 6.	Lepidoptera’da bulunan hücre tipleri	19
Şekil 2. 7.	İleum hücreleri.....	20
Şekil 3. 1.	<i>Pieris brassicae</i> yetiştirilirken kullanılan insektaryum.....	22
Şekil 3. 2.	İnsektaryumda hayat döngüsü	23
Şekil 3. 3.	Ringer solüsyonuna alınmış örnekler	23
Şekil 3. 4.	Larva diseksiyonu ve çıkarılan larva sindirim kanalı.....	24
Şekil 3. 5.	Tespit sırasında dokular.....	25
Şekil 3. 6.	Rotary mikrotom (Reichert - Jung)	27
Şekil 4. 1.	Sayım alanı ve epitel hücre yüksekliği ölçümü	34
Şekil 4. 2.	Larva sindirim kanalı.....	35
Şekil 4. 3.	Larva sindirim kanalı.....	36
Şekil 4. 4.	Larvada peritrofik membran.....	37
Şekil 4. 5.	Larvada sindirim kanalı, ortabağırsak	38
Şekil 4. 6.	Larvada rejeneratif hücreler.....	39
Şekil 4. 7.	Larva sindirim kanalı TEM görüntüsü	40
Şekil 4. 8.	Larva sindirim kanalı TEM görüntüsü	41
Şekil 4. 9.	Larva TEM kesitlerinde mitokondri görünümü	42
Şekil 4. 10.	Larva TEM görüntülerinde mikrovilluslar	43
Şekil 4. 11.	Erginde sindirim kanalının genel görünümü	44
Şekil 4. 12.	Erginde sindirim kanalının prizmatik epitel hücreleri ve katlantılar ..	45

Şekil 4. 13.	Erginde gümüşleme boyama	46
Şekil 4. 14.	Erginde TEM görüntüsünde ortabağırsak	47
Şekil 4. 15.	Erginde TEM görüntüsünde mitokondri	48
Şekil 4. 16.	<i>Pieris brassicae</i> larva ve ergin epitel yüksekliği ölçüm değerleri grafiği.....	51
Şekil 4. 17.	Larva ve ergin epitel hücre sayısı ölçüm değerleri grafiği	52
Şekil 4. 18.	Larva ve ergin goblet hücre sayısı ölçüm değerleri grafiği.....	56



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4. 1	<i>Pieris brassicae</i> larva ve ergininde epitel yüksekliği ortalaması	49
Çizelge 4. 2.	<i>Pieris brassicae</i> larva ve ergininde epitel yüksekliği Normallik Testi sonuçları.....	49
Çizelge 4. 3.	<i>Pieris brassicae</i> larva ve ergininde epitel yüksekliği t - testi sonuçları	50
Çizelge 4. 4.	Epitel yüksekliği ANOVA testi sonuçları	51
Çizelge 4. 5.	Larva ve ergin epitel hücre sayısı ortalamaları.....	52
Çizelge 4. 6.	Larva ve ergin epitel hücre sayısı ortalamalarının çarpıklık ve basıklık katsayıları	53
Çizelge 4. 7.	Larva ve ergin epitel hücre sayısı Normallik Testi verileri	53
Çizelge 4. 8.	Larva ve ergin epitel hücre sayısı arasındaki farklılık.....	54
Çizelge 4. 9.	Larva ve ergin epitel hücre sayısı ANOVA Testi sonuçları.....	55
Çizelge 4. 10.	<i>Pieris brassicae</i> larva ve ergin goblet hücresi sayısı Normallik Testi sonuçları.....	56
Çizelge 4. 11.	<i>Pieris brassicae</i> larva ve ergin goblet hücresi sayısı t - testi sonuçları	57
Çizelge 4. 12.	<i>Pieris brassicae</i> larva ve ergin goblet hücresi sayısı ANOVA testi sonuçları.....	58

1. GİRİŞ

Lepidoptera takımı, en yaygın ve en iyi bilinen böcek grubu olan kelebekleri içermektedir. Bu takım, 120000'den fazla tanımlanmış türe sahip olan en geniş böcek takımlarından biridir. Lepidoptera'ya ait üyeler çok çeşitli habitatlarda bulunmaktadır. Yüksek yapılı bitkilerle, özellikle Angiosperm'lerle ilişkilidir. Mevcut türlerin çoğunluğunda erginler nektar, olgun meyvelerin suyu veya diğer sıvılarla beslenmektedir. Türlerin larvaları çoğunlukla fitofajdır. Fitofaj alışkanlıklarından ve yüksek üreme oranından dolayı birçok tür önemli zararlılardır (Ayberk vd, 2010).

Yaşam döngüleri sırasında, başkalaşım geçirdiklerinden dolayı, yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere dört evre görülmektedir. Anatomik, morfolojik, davranış vb. açıdan larva ve ergin arasında farklılıklar göze çarpmaktadır. Lepidoptera erginleri ve larvaları farklı beslenme şekillerine sahiptirler (Borror vd, 1989).

Lepidoptera erginleri sahip oldukları emici tip ağız yapısı sayesinde bitki öz suyu ile beslenmektedirler. Larvalarda ise çiğneyici tip ağız bulunur ve bu nedenle kültüre alınmış bitkilerde önemli zarara yol açmaktadırlar (Bolu & Çınar, 2005). *Pieris brassicae* L, 1758 (Lepidoptera: Pieridae) larvaları Cruciferae türleri üzerinde beslenirken, erginleri çeşitli bitkilerin öz suları ile beslenmektedirler. Larvalar Cruciferae'den karnabahar, lahana, turp, kırmızı lahana gibi çeşitli bitkileri besin olarak tercih etmektedirler (Ferrerres vd, 2007; Yıldız & Kaygın, 2010; Pereira vd, 2010). Larvalar; ilk olarak yapraktaki damarların arasını, daha sonra ise sadece kalın damarlar kalana kadar yaprakları kemirmek suretiyle beslenmektedirler (Anonim, 2011a).

İkinci ve üçüncü dönem larvaların yapraklar üzerinde beslendiği görülürken, ikinci dönem sonu ve üçüncü dönem başındaki larvaların bitki dallarının küçük yapraklarından çiçek tomurcuklarına ve çiçeklere göç ettiği gözlenmektedir (Smallegange, 2007).

Pieris brassicae Cruciferae familyasına ait bitkiler üzerinde önemli derecede zarar veren bir türdür. Lepidoptera takımı içerisinde en fazla yayılış gösteren

türlerden biridir (Ansari vd, 2012; Chahil & Jagdev, 2013).Geniş alanlara göç etme yeteneği ve beslenme alışkanlıkları nedeniyle Avrupa, Kuzey Afrika ve Asya’da birçok zirai ürünün temel zararlılarından biridir. *Pieris brassicae*’ye ait larvalar bitkilerin farklı kısımlarını yiyerek zarar vermektedirler. Erginler, siyah benekli, beyaz keleklerdir ve yumurtalarını Brassicaceae familyasının çeşitli türleri üzerine bırakmaktadırlar. Yumurtadan çıkan larvalar konak bitkinin yapraklarıyla beslenmektedirler (Sharifloo vd, 2016). Fitofaj olan bu larvalar bitkilere büyük zarar vermelerine rağmen, erginler çiçeklerin nektarlarıyla beslendiklerinden dolayı zarar vermemektedir (Nezir, 2007).

Larvalar yaprakların alt ve üst yüzeyleri arasındaki klorofil ile beslenmektedirler. Bunun sonucunda, yeşil klorofilin çıkartıldığı yaprak yüzeyinde karakteristik bir şeffaf yama oluşmaktadır. Bazı türler, larval evrede konak bitki üzerinde bıraktıkları izlerin yeri ve şekliyle teşhis edilebilmektedir (Lafontaine & Troubridge, 1998).

Pieris brassicae, konukçu bitkinin tüm gelişim evrelerinde zarara neden olan en zararlı türlerden biridir (Lal & Ram, 2004;Younas et al., 2004; Hasan, 2008). Geniş yayılışa sahip oligofaj bir türdür ve Cruciferae’ye ait 83 besin bitkisine zarar verdiği bilinmektedir (Bhandari et al., 2009).

Bu çalışmada *Pieris brassicae*’nın farklı şekilde beslenen larva ve ergin safhalarındaki sindirim sistemleri arasındaki farklılıkların histolojik olarak, ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde görüntülenmesi amaçlanmaktadır. Ortaya konacak farklılık, zararlılarla mücadelede önemli rol oynayabilecektir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

Pieris brassicae'nin sistematikteki yeri, yaşam döngüsü ve sindirim kanalı ile ilgili literatür bilgileri bu bölümde yer almaktadır.

2.1. Sistematikteki Yeri

Pieris brassicae, Insecta sınıfında yer alan, “Büyük beyaz melek” ya da “Lahana kelebeği” olarak bilinen bir türdür (Borror vd, 1989).

Papilio brassicae Linneaus, 1758. Systema Naturae (Et N. 10), 1: 467. Tip lokalite: İsveç (Anonim, 2011b).

Regnum: Animalia

Phylum: Arthropoda

Classis: Insecta

Ordo: Lepidoptera

Subordo: Ditrysia

Superfamily: Papilionoidea

Family: Pieridae

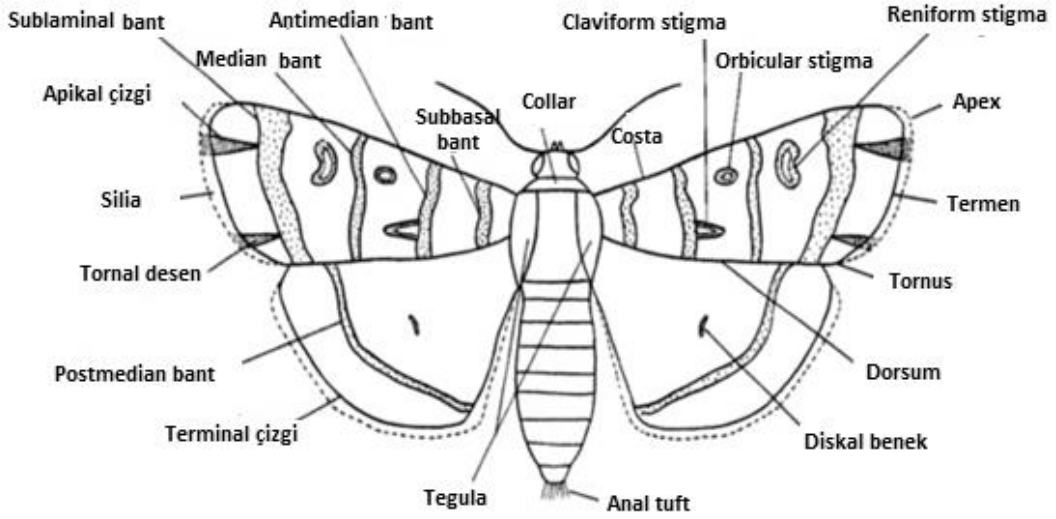
Subfamily: Pierinae

Genus: *Papilio*

Tür: *Papilio brassicae* Linneaus, 1758

2. 1. 1. Ordo: Lepidoptera

Lepidoptera, herkes tarafından iyi bilinen kelebekleri içeren bir gruptur (Borror vd, 1989). 47 süperfamilyada, 124 familya içerisinde, yaklaşık 160.000 tanımlanmış türle hayvanlar aleminin en çeşitli taksonlarından biridir (Kansu, 1963; Krenn, 2010; Kristensen vd, 2007).



Şekil 2. 1. Lepidoptera genel görünümü (Carter, 1984)

Ergin Lepidoptera üyeleri, iki çift membransı, pulla örtülü kanatlarının bulunmasıyla diğer böceklerden ayırt edilirler. Vücudun büyük bölümünü kaplayan pullar genellikle pigment içerir ve ayırt edici desenler oluşturur (Şekil 2. 1.). Kanatlardaki damarların dağılımı da Lepidoptera gruplarını ayırt etmede çoğu kez faydalı olmaktadır (Hill, 1987; Borror vd, 1989).

2. 1. 2. Familya: Pieridae

Pieridae Lepidoptera'nın oldukça küçük bir familyasıdır ve dört altfamilya ve 85 cins içinde yer alan yaklaşık 1000 türden oluşmaktadır. Uzun süredir Pieridae türleri ekolojik ve evrimsel çalışmaların konusu olmaktadır. Fakat familya içerisindeki önemli nesillerin filogenetik akrabalıkları detaylı olarak son yıllarda çalışılmıştır. Familyanın monofiletiği iyi bir şekilde belirlenmiştir, dört alt familyanın ve alt familyalar içindeki birkaç cinsin arasındaki akrabalıklar belirsiz kalmıştır (Wahlberg vd, 2014).

Orta büyüklükte kelebeklerdir (Borror vd, 1989). Pieridae'nin karakteristik özellikleri, kanatlarında sarı ve beyaz renkler ve sık bir şekilde yerleşmiş siyah beneklerin bulunmasıdır. Bu siyah beneklerin sayısı ve şekli cinsiyet teşhisinde önemli rol oynamaktadır (Boylu vd, 2012).

Ön kanattaki radius genellikle üç veya dört dallıdır. Ön bacaklar iyi gelişmiştir ve tarsal pençe iki eşit parçalıdır. Pieridae'ye ait birçok tür çok yaygındır ve çok sayıda bir arada bulunan kelebeklerdir. Bazen toplu göç yaptıkları görülür (Borror vd, 1989).

2. 1. 3. Tür tanımı

Ülkemizde “Büyük beyaz melek” veya “Lahana kelebeği” olarak bilinen *Pieris brassicae*, Pieridae familyasına ait tipik bir türdür (Feltwell, 1982).

Ön kenar uzunluğu: 20-24 mm. olup, arka kanatlarda beyaz-krem rengi olsa bile ön kanatlar beyaz bir zemine sahiptir. Kanatların apeksi siyah renktedir. Dişiler, erkeklerden farklı olarak, ön kanatlarında iki küçük yuvarlak siyah desene sahiptir. Her iki eşeyde özellikle arka kanatlar genellikle sarı zeminden oluşmaktadır. Erkeklerin arka kanadının ucunda iki nokta bulunmamakta, kuşaklar arası varyasyonlar görülmektedir (Anonim, 2011b) (Şekil 2. 2).

2.2. Ekolojisi

Lepidoptera'nın hemen hemen tüm türlerinin hem larval hem de ergin evreleri beslenme yönünden damarlı bitkilerle ilişkilidir. Çoğu larva çiğneyici ağız parçalarını kullanarak bitki materyali üzerinde beslenmektedir. Erginlerin çoğu çiçekle beslenmektedir (anthofiloz); floral nektarı ve diğer sıvı maddeleri içine çekmekte kullanılan bir proboscis'i bulunmaktadır (Krenn, 2010).

Pieridae erginleri pollinatördür fakat larvalar veya tırtıllar birçok ürün ve meyvenin ciddi zararlılarındandır. Pieridae'ye ait birçok kelebek tırtılı, Brassicae familyasına ait çeşitli bitkiler üzerinde beslenir (Mal vd, 2014).

Pieridae türlerine ait örnekler, predatör böceklerin beslenmelerinde önemli bir kaynak oluşturdukları için de ekosistem içerisinde besin zincirinde önemli yer tutmaktadırlar (Boylu vd, 2012).

Pieris spp. ve konukçu bitkileri arasındaki ilişkiler yıllardır çalışma konusu olmaktadır. *Pieris* kelebek larvaları Cruciferae ve birkaç yakın familyada (örneğin, Resedaceae ve Capparidaceae) yer alan bitkiler üzerinde beslenirler (Chen vd, 2004).



a)



b)

Şekil. 2. 2. *Pieris brassicae* genel görünüm a) Dişi
b) Erkek (Anonim, 2017)

Pieris brassicae. turp ve lahana gibi crucifer sebzelerin ciddi bir zararlısıdır. 12 familyaya ait 91 bitki türüne zarar vermektedir, erginleri çeşitli bitki türlerinin nektarlarıyla beslenmektedir. Larvalar, karnabahar, lahana, şalgam, daha nadir olarak da kırmızılâhana ve turp gibi çeşitli Cruciferae türleri üzerinde beslenebilir. *P. brassicae*, latin çiçeği, sarımsak, muhabbet çiçeği, gebre otu ve sarımsak otu üzerinde de görülebilir (Sadozai & Khan, 2014).

Larvaların yaprağın merkezine nazaran periferine daha çok zarar verdiği görülmüştür. Tüm alanda hasar oluştuğunda ürünün zirai anlamda satışı mümkün olmamaktadır. Gözle görülür hasar oluşmamasına rağmen larvanın dışkıları nedeniyle bitkinin verimsiz hale gelmesine sebep olmaktadır (Feltwell, 1978).

2.3. Zoocoğrafik Dağılışı

Avrasya’da yayılış gösteren bir türdür. Büyük Britanya dahil, Avrupa’nın büyük bir kısmında, doğuda ise Himalayalar’a kadar uzanan bir popülasyon yayılışına sahiptir (Anonim, 2011b). Türkiye’nin tamamında yaygındır (Alford 1995; Hesselbarth vd, 1995).

2.4. Yaşam Döngüsü

Pieris brassicae, Şubat ve Ekim ayları arasında birçok nesil veren polivoltin bir türdür. Her lokalitenin iklimsel özelliklerine bağlı olarak farklılaşmasına rağmen, nisan ve eylül nesilleri daha baskın gibi görünür. Tırtıllar ana konukçu olarak lahanayı seçmesine rağmen çok çeşitli bitkileri de tercih edebilirler. Bunlar arasında lahananın kültüre edilmiş varyeteleri, karnabahar, turp, kanola ve şalgam bulunmaktadır (Anonim, 2011b).

Pieris brassicae erginlerinin dişileri, bu bitki türlerinin yapraklarının alt yüzeylerine, 25-50’lik paketler halinde yüzden fazla yumurta bırakmaktadır (Hill, 1987; Anonim, 2011b).

Yumurtalar sarı, çizgili, iğ biçimlidir (Hill, 1987). Yumurtalar ilk bırakıldığında çok açık saman renginde olup, yirmi dört saat içerisinde koyulaşarak sarıya dönüşür. Yumurtalar çatlamadan birkaç saat önce siyaha dönüşür ve larva kabuk boyunca görülebilmektedir (Metspalu vd, 2003). Bu yumurtalar Hymenoptera’nın *Apanteles* cinsi tarafından sık sık parazitlenmektedirler (Anonim, 2011b). Yumurtaların çatlaması 6-8 günü bulmaktadır. Genç larva önce yumurta kabuklarını yer, daha sonra birbirlerini yakından takip ederek sürü halinde yaprak yüzeyini yemeye başlamaktadır. Gelişip deri değiştirirken tüm bitki üzerine kademeli olarak yayılmaktadırlar. Larvalar 4-6 hafta beslenir ve yaklaşık 25-40 mm’lik tam boyuna ulaşmaktadır. Larva, siyah büyük benekli, dayanıklı tüylere sahip, dorsalde sarı çizgili, sarımsı yeşil ayırt edici bir vücut renklenmesine sahiptirler (Hill, 1987).

Beşinci larva evresinden sonra, taşların, dalların ve hatta duvarların, çitlerin, kiremitlerin üzerinde krizalit oluşturmaktadırlar. İki hafta sonra pupadan erginler çıkmaktadır (Anonim, 2011b).

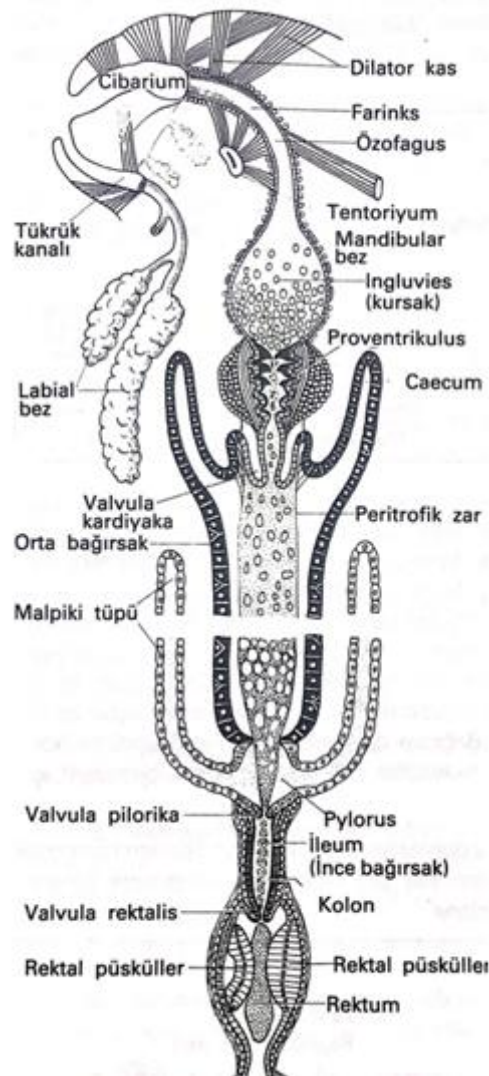
2.5. Morfolojisi

Lepidoptera’da sindirim sistemi uzun bir kanal şeklinde uzanmaktadır ve *Pieris brassicae*’de de bu görünüm mevcuttur (Fischer, 2003).

2.5.1.Sindirim kanalı

Sindirim kanalı, tüketilen besinin sindirimi ve emilimi ile ilgilidir. Tüm Arthropod’larda olduğu gibi, Lepidoptera’da da sindirim kanalı kutikula ile döşeli bir ön bağırsak (stomodaeum), bir ortabağırsak (mezenteron) ve kutikula ile döşeli bir arkabağırsak (proctodaeum)’tan oluşur. Larval evre, beslenme ve büyümenin en üst düzeyde olduğu bir dönem olarak tanımlanmaktadır. Böcek larvalarının sindirim kanalları, fazla miktarda besin tüketimi olduğundan geniştir, hemen hemen tüm larval Lepidoptera’da ortabağırsak, bağırsağın en uzun ve en hacimli bölgesidir. Larval sindirim kanalı tüm vücut boyunca uzanan basit, düz bir tüp olarak gözlenmektedir (Fischer, 2003).Böceklerde sindirim kanalı vücutta boydan boya uzanmaktadır. Değişik yapılar ve bölgelerle farklılaşma görülmektedir. Sindirim kanalı, dıştan içe doğru, *Membrana propria*, boyuna kaslar, halkalı kaslar ve tek tabakalı epitelden meydana gelmektedir. *Membrana propria* ’nın dışında peritonal bir kılıf bulunmaktadır. Bağırsak, ön, orta ve arkabağırsak olmak üzere üç kısımdan oluşmuştur (Şekil 2. 3). Bu üç bölgenin embriyolojik kökenleri farklılık göstermektedir (Demirsoy, 1995).

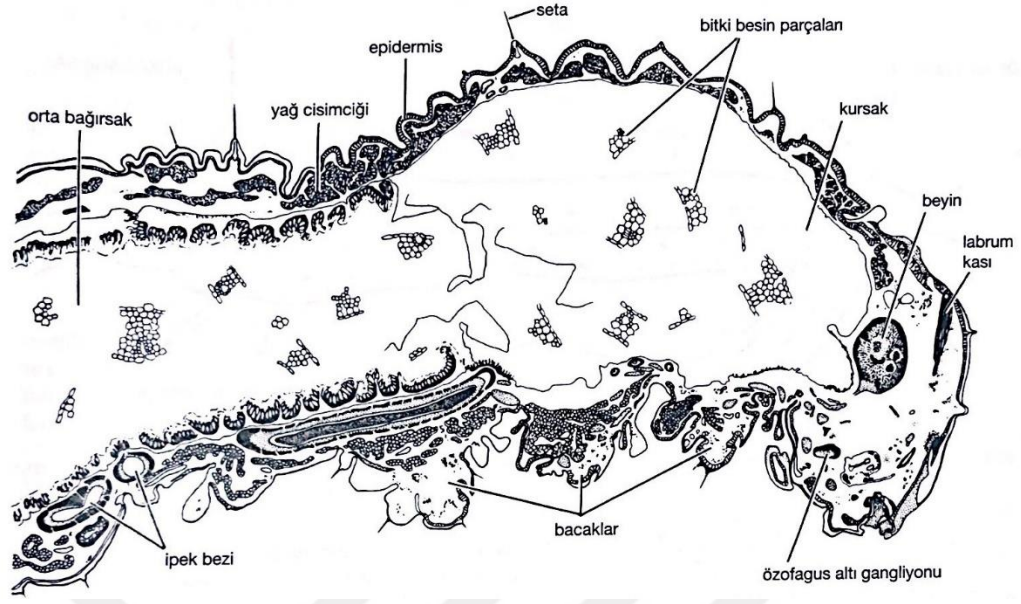
Sindirim kanalı uzun, arkabağırsak bölgesinde oldukça düzdür. Sindirim kanalının iki ucu, oral ve anal bölgedeki kaslar aracılığıyla vücut duvarına bağlanmıştır. Bazı yerlerde trakeal dallar ve yağ dokuyla desteklenmektedir (Gaikwad, 2011).



Şekil 2. 3. Sindirim sistemi genel görünümü (Demirsoy, 1995)

2.5.1.1. Larval yapı

Pieris brassicae larvaları kursak (crop), ön, orta ve arka bağırsaktan oluşan altı adet Malpighi tüpü ve rektal çekumlarla beraber tipik bir böcek sindirim kanalına sahiptir (Gullan & Cranston, 2012) (Şekil 2. 4).



Şekil 2. 4. *Pieris rapae* larva ön kısım boyuna kesiti (Gullan & Cranston, 2012)

P. brassicae larvalarının bağırsağı *Lymantria dispar* (L.)'inkine benzemektedir. Tek sıralı prizmatik epitel bulunmaktadır, daha küçük goblet hücreleri aralarına dağılmış olarak gözlenmektedir. Çekirdeklerin kromatini daha ince granüllerden oluşmuştur ve çekirdekçik daha küçüktür. Protoplazma asidofilik granül içermemektedir (Feltwell, 1982).

P. brassicae bağırsağıyla ilgili daha sonraki çalışmalar Plantevin & Nardon (1970) tarafından yapılmıştır. *P. brassicae*'da ortabağırsak katlantılarında prizmatik hücreler, goblet hücreleri ve bazal hücreler olmak üzere üç tip hücre gözlenmiştir. Prepupal evre sırasında goblet hücreleri gözden kaybolmakta ve silindirik hücreler uzunluğu yaklaşık olarak 30-40 μ 'na ulaşmakta, bazal hücreler ise aynı kalmaktadır. Prizmatik hücrelerin glikojen depolarının düzensiz olduğu, asidik monosakkaritler ve esasi aminoasitleri içeren proteinlerin villusların apikalinde yerleşmiş olduğu bulunmuştur. Goblet hücrelerinde mukopolisakkaritlere rastlanmamıştır, fakat glikoproteinler mevcuttur (Feltwell, 1982).

Prizmatik hücrelerin apikalinden küçük vesiküller içindeki mukopolisakkaritler merokrin salgılama ile dışarı atılırlar ya da apokrin salgılama ile protein ve mukopolisakkaritler tomurcuklanarak lümene verilirler (Feltwell, 1982).

Larval Lepidoptera çok çeşitli besinlerle beslenmektedirler. Türlerin büyük çoğunluğu fitofajken, bazı türler kürk, tüy, balmumu, tohum, mantar veya döküntü gibi bazı maddelerle beslenmeyi tercih etmektedirler (Fischer, 2003).

2.5.1.1.1. Önbağırsak

Kelebeklerde larval stomodeum, posteriorde genişlemiş bir tüp şeklinde basit bir yapıdadır. Micropterigidae'de geniş ve ince duvarlı stomodeal genişleme tüm anterior vücut boşluğunu doldurabilir. Bununla birlikte bu özellik, familya otoapomorfisi olarak görülebilir. Önbağırsak kas tabakası genellikle, en azından anterior bölgede, yanaşık düzenli halkasal lifli bir dış tabakadan oluşur; içteki boyuna lifler daha geniş aralıklıdır. Önbağırsak/ortabağırsak geçişi, içe doğru katlanmış stomodeal (veya özefajel) kapak (*Valvula cardiaca*) olarak gelişmiştir ki bu incelenmiş tüm non-Glossata'da basit ve kısadır. Stomodeumlarının en gerideki parçası olan proventriculus, bunlarda, özelleşmiş kutikular dişlerden yoksundur. Çoğu larval Glossata'da stomodeum, ortabağırsağına neredeyse eşit veya daha küçük çapta olan kursağa açılan tüp şeklindedir. Kursak, bazen çok genişlemiş olabilir. *Zygaena* türlerinde kursağın çapı ortabağırsağına aşabilmektedir. Bazı yazarlar, birçok Glossata'da genişleten yapıların içine girdiği kısa stomodeal bölümü özefagus olarak adlandırmıştır; kursak, takip eden önbağırsağın tümüdür. Nispeten kısa ve basit bir önbağırsak, herbivorlarda genel bir durumdur, tırtılların çoğunda önbağırsağın özel bir fonksiyonu bulunmamaktadır. Dauberschmidt (1933) kozalaklı ağaç (konifer) ile beslenen *Dendrolimus*'ta (Lasiocampidae) önbağırsak uzunluğunun ortabağırsak uzunluğunu aştığını ve kozalaklı ağaç ile beslenen *Panolis*'te (Noctuidae) ise daha da uzun olduğu belirtilmiştir. Aralıklı olarak beslenen tırtıl türleri (örneğin; *Malacosoma* türleri) ve Hesperidae familyasından olan bazı türler gibi gece aktif olan (noktürnal) türler de geniş önbağırsaklara sahiptir. Önbağırsak kaslarının halkasal lifleri, proventriculusun anterior ve posterior bölgelerinde görünüş olarak çok yakın dizilmiştir. Boyuna kas lifleri geniş aralıklara sahiptir. Tipik bir böcek orta ve arka bağırsağında olduğu gibi, önbağırsağın posterior ucunun yakınlarında boyuna kas lifleri halkasal kasların dış tarafında uzanır. Daha yüksek seviyedeki Ditrysia'da, Noctuidae'de olduğu gibi, stomodeal kaslar gelişmiş olabilir (Fischer, 2003).

Birçok *Ditrysia* larvasında proventriculusunda küçük, bazen melanize, kutikular çıkıntılar, dişler veya plakalar vardır. *Marasmia*'da bu çıkıntılar, özellikle iç zarı kalınlaşmış, karşılıklı iki katlantı boyunca yerleşmiştir. *Galleria*'da belirgin olarak gelişmiş kursak vardır. Bu türlerde kıvrımlı kutikular tümsekler yan yana yer alır ve her biri tek katlı epitel tabakası ile döşelidir. *Achroia*'da karşılık gelen yapılar daha ayrıntılıdır. Posterior odaklı bu yapıların genellikle besinin ortabağırsağa doğru hareketine yardımcı olduğu düşünülür fakat yayılışı, yapı ve fonksiyonu ayrıntılı olarak incelenmemiştir (Fischer, 2003).

Larval *Myrascia*, besin bitkilerinden (*Myrtaceae*) çıkardıkları yağın depolanması için geniş bir bağırsak diverticulumuna sahiptir; yağlar, predatörlere veya parazitoitlere karşı bir savunma olarak geri püskürtülebilir. Larval *Hyblaeidae* ve bazı *Thyrididae* ağzından üretilen savunma sıvısının da geri püskürtülebilir önbağırsak içeriği olduğu düşünülmektedir (Fischer, 2003).

Geçirgen olmayan bir kutikular astar ile örtülü olduğu için, önbağırsak epiteli az çalışılmıştır. Çekirgelerin önbağırsaklarındaki sindirim aktivitesinden farklı olarak, tırtılların önbağırsaklarının biyokimyasal olarak inaktif olduğu düşünülmektedir. Bununla beraber, *Hesperidae*'nin önbağırsağında, yutulan yaprak dokuları içindeki hücrelerde organellerin ve plazma membranının sindirimi başlamaktadır (Fischer, 2003).

2.5.1.1.2. Ortabağırsak

Lepidoptera ortabağırsağının temel planı, bazı Trichoptera, Mecoptera-Nannochoristidae ve Heterobathmiidae'de olduğu gibi, silindiriğe yakındır. Bu biçim, Lepidoptera larvalarında yaygındır. Micropterigidae ve Agathiphagidae'nin incelenen üyelerinde olduğu gibi, anterior uç yakınında en geniş halde olup posteriore doğru incelebilmektedir (Fischer, 2003).

Tinea'yı içeren daha aşağı Lepidoptera'da larval ortabağırsak duvarı düzgünken, daha yüksek *Ditrysia*'da çoğu kez çıkıntılı kıvrımlara sahip olduğu gözlenmektedir. Katlanma modeli *Manduca*'da ayrıntılı çalışılmıştır. Bu tür, altı boyuna katlanmamış epitel çizgisine sahiptir ve araya giren bölgelerin her biri bağırsak uzunluğu boyunca farklı enine katlanma modellerine sahiptir. Ortabağırsağın orta kısmı zayıf katlanmış epitel bölgelerine sahiptir (Fischer, 2003).

Katlanmamış bağırsak duvarı boyuna çizgileri genellikle yüksek yapılı Ditrysia ortabağırsak epitelinde bulunur. Çoğunlukla ya iki çizgi (dorso- ve ventromedial) ya da dört çizgi (dorso- ve ventromedial artı lateral) bulunur. Altı çizgi bulunma durumunun Sphingidae ile kısıtlı olduğu belirtilmiştir. Katlanmamış çizgiler, ortabağırsak uzunluğunun sadece bir kısmına ulaşabilir. Yüksek, boyuna bölünmüş katlantılardan oluşan göze çarpan anterior ortabağırsak tümsek halkası birkaç taksonda (*Galleria*, *Dasychira*) kaydedilmiştir. Ortabağırsak kasları içte halkasal, dışta boyuna liflerden oluşmuştur. Boyuna çizgili, katlanmamış bağırsak duvarına sahip taksonlarda, kalın boyuna kaslar bu çizgiler arasında yerleşmiştir. Benzer şekilde, halkasal lifler enine katlantılar arasında yerleşiktir. İnce, geniş boşluklu ve halkasal liflerin içerisinde yerleşik olan başka bir boyuna kas tabakasını da incelemiştir. *Manduca*'da ince ve geniş boşluklu kas lifleri, halkasal liflerin dış tarafında komşu büyük boyuna bantlar arasında dolaylı olarak uzanmaktadır. Farklı olarak, *Zygaena*'da kas liflerinin spiral demetler oluşturması gözlenmiştir (Fischer, 2003).

Lepidoptera (Ditrysia)'da incelenen ortabağırsak epitelinde iki tip hücre yaygındır: genel prizmatik hücreler ve goblet hücreleri. Goblet hücreleri oldukça içe doğru katlanmış haldedir ve geniş bir intraselüler boşluk oluştururlar. Bu durum, omurgalı epitelinde mukus salgılayan goblet hücrelerinden belirgin olarak farklılık göstermektedir. 1960'lardan beri yapılan transmisyon elektron mikroskobu (TEM) çalışmaları, her goblet hücresinin, fonksiyonel bir birim oluşturan bir grup prizmatik hücre ile çevrili olduğunu, küçük rejeneratif hücre gruplarının, prizmatik ve goblet hücrelerinin arasına dağılmış olduğunu ve sürekli olarak bu üzerini örten hücrelerin yerini aldığını göstermektedir. Birkaç taksonun epitelinde de rejeneratif hücrelere benzeyen, az sayıda endokrin hücre belirlenmiştir (Fischer, 2003).

Bazı Trichoptera larvalarında da aynı tip goblet hücrelerine rastlandığı, bu hücre tipinin amphiesmenopteran düzenini temsil ettiği ileri sürülmektedir; bu durum üstordo otomorfisi olarak yorumlanabilmektedir. Goblet hücreleri Micropterigidae'de de mevcuttur. Bazı Trichoptera larvalarında sözde goblet hücreleri, geniş internal çukurlara sahip değildir; sitoplazmaları bol salgı kesecikleri içermektedir ve Annulipalpia ve Lepidoptera'daki bilinen goblet hücrelerinden belirgin olarak ayrılmaktadırlar. Micropterigidae familyası hariç, larval

Lepidoptera'da herbivor olmama durumu, sekonder bir karakter olarak ortaya çıkmaktadır (Fischer, 2003).

Prizmatik hücrelerin apikal membranlarında mikrovillusları vardır, bazal membranları yoğun olarak katlanmış şekilde görülmektedir. Bazal girintiler, çekirdeğin yerleşmiş olduğu hücrenin ortayüksekliğini aşabilir ve katlanmalar arasındaki bölmelerde yoğun mitokondri içermektedir. Özellikle orta ve apikal bölgelerde olmak üzere, mikrotübüller de yoğundur, apikal sitoplazma daha ince filamanlar içermektedir. Bu filamanlar, mikrotübüllerden farklı olarak, mikrovillusların içerisine uzanmaktadır. Sitoplazma yoğun olarak granüllü endoplazmik retikulum içermektedir (Fischer, 2003).

Manduca'da prizmatik hücre yapısı, orta bağırsakta önden(anterior) arkaya (posterior) doğru kademeli olarak değişmektedir. Ön bölgede apikal çıkıntılar basit mikrovilluslar oluşturmamakta; onun yerine şişkinlikler bulunmaktadır ve sitoplazmik köprülerle birbirine bağlanarak kompleks bir ağ oluşturmaktadırlar. Membran bağlı vesiküller, ağ yüzeyinden ortabağırsağın ön bölümünden ektoperitrofik boşluğa salınmaktadır (Fischer, 2003).

2.5.1.1.3. Arkabağırsak

Ortabağırsağın hemen ardından gelen bağırsağın kutikula döşeli bölgesi pylorus olarak bilinmektedir. Malpighi tüplerinin atıkları pilor (pylorus) lümenine boşaltılmaktadır. Post-pilorik arkabağırsakta anterior ileo-kolon (ileum) ve posterior bir rektum olmak üzere tipik olarak iki bölüm mevcuttur ve sfinkter bir kas ile ayrılırmaktadır (Fischer, 2003).

2.5.1.1.3.1. Pilor

Pilor, sonraki bağırsak bölümünden kuvvetli bir sfinkterkasa sahip olan *Valvula pylorica* tarafından oluşturulur. Pilorik bölgenin kutikular iç zarı değişken gelişmiş bir çıkıntılı plaka yapısına sahiptir (Fischer, 2003).

Larvaların dışkıları genellikle ayrı topaklar şeklinde depolanmaktadır. Bu topaklar çoğu kez arkabağırsak duvarının boyuna katlantılarına karşılık gelen boyuna oluklar (tipik olarak altı) taşımaktadır. Dışkı topakları çoğu kez peritrofik örtü ile sarılı kalmaktadır (Fischer, 2003).

2.5.1.1.3.2. İleo-kolon (İleum)

Burası, pilordan daha çok kübik hücreler içeren prerektal epitel ile çevrilmiştir. Sekonder post-pylorik arkabağırsak odası için kolon ifadesi kullanılmıştır (Fischer, 2003).

Taksonlar arasında ileo-colon duvar histolojisi değişiklik göstermektedir. *Manduca*'da apikal membranlar sadece küçük, basit kütikül taşıyan tipik mikrovilluslara sahiptir ve bazal hücre bölgeleri benzer şekilde özelleşmemiştir. Bu bağırsak bölümünün bu yüzden aktif taşıma faaliyetine karışmadığı düşünülmektedir. Burada oluşturulup peristaltik hareketlerle rektuma taşınan dışkı kümeleri, geçiş sırasında su içeriklerini tutmaktadırlar. Bununla beraber, *Ostrinia*'nın apikal mikrovilluslar uzundur ve aktif taşıma mekanizmasının varlığını gösteren çok sayıda mitokondri içermektedir (Fischer, 2003).

2.5.1.1.3.3. Rektum

Arkabağırsağın bu bölümü, hemolenfin dengeli bir su/çözünen madde bileşimini korumada Malpighi tüpleriyle etkileşime girmektedir. Rektal epiteldeki hücre yapısı aktif taşıma göstergesidir. Diğer endopterygot larvalarında olduğu gibi, erginin yerleşik emici rektal papillalarının karşılık gelen yapıları yoktur (Fischer, 2003).

2.5.1.1.4. Peritrofik Zar

Ortabağırsak içindeki besin, epitelden laminar yapıyla astarlanmış bir zar ile ayrılır. Biyolojik zarlardan bu yapıyı ayırt etmek için peritrofik zar terimi kullanılmaktadır. Peritrofik zarda yer alan tabakalar, glikoprotein ve proteoglikanlardan oluşmuş bir protein kümesidir (matriks) ve mikrofibril (kitin) ağına bağlıdır. Bu ince, sağlam yapı ortabağırsak lümenini ektoperitrofik ve endoperitrofik boşluklar olarak ayırmaktadır. Böceklerde iki tip peritrofik zar bulunmaktadır. Birinci tip peritrofik zar ortabağırsak epitelinden salgılanmaktadır ve çok katlı tabakalardan oluşmaktadır. İkinci tip peritrofik zar, özofajel sfinkterin distal ucundaki stomodeal ve mezenterik epitel arasındaki özelleşmiş bir hücre halkasından salgılanan tek bir tabaka şeklindedir. Her iki peritrofik zar tipinin de larval Lepidoptera'da bulunduğu bilinmektedir. Larvalarda yaygın olarak görülmekte olan birinci tip peritrofik zardır (Fischer, 2003).

2.5.1.1.5. Fonksiyon

Ortabağırsak besin sindirimi ve emiliminin temel bölgesidir. Protein hidrolizi başlıca anterior ortabağırsakta veya ortabağırsağın tüm uzunluğu boyunca meydana gelebilir. Ortabağırsak, yutulan bitki alelokimyasallarının emiliminde ilk bölgedir. Yüksek oranda detoksifikasyon ve antioksidan enzimleri içerir (Fischer, 2003).

Larvaların ortabağırsak sıvılarında yüksek bir potasyum konsantrasyonu, güçlü alkalik pH ve neredeyse oksijensiz koşullar bulunmaktadır. Bazı larvaların ortabağırsak lümeninin pH'ı, diğer bazı biyolojik sistemlerin pH'ından daha büyüktür. *Manduca*'da pH 12'yi aşmaktadır. Bağırsak pH'ı, beslenme durumuna göre değişir. Bazı larvalarda bağırsak pH'ı yutulan besin bitkisinin türüyle de etkilenmektedir. Yüksek alkali durumu ve bağırsak sıvısının çözücü gücü tanen proteinlerinin bağlarını ayırır. Ağaç yaprak yiyen türleri ot yiyen türlerden daha yüksek bağırsak pH'ına sahiptir. Lümeninde, yüksek konsantrasyonda antioksidanların (örneğin, askorbat) bulunması ile alınan fenolik bileşiklerin oksidasyonu baskılanabilir (Fischer, 2003).

Peritrofik zar, ortabağırsakta birçok koruyucu rol oynamaktadır. En belirgin şekilde, aşındırıcı besin parçacıklarının yaptığı mekanik hasara karşı apikal bölgedeki mikrovillusların mekanik hasarını engellemektedir. Patojenlerden ve besinlerdeki zarar verici kimyasallardan korumaktadır. Peritrofik zar, ortabağırsağı bölümlere de ayırır. Anterior ortabağırsak bölgeleri, ektoperitrofik boşlukta ileri doğru kitlesel akış oluşturmak için yeterli miktarda su emmekte, salınmış enzimlerin kaybını potansiyel olarak azaltmaktadır (Fischer, 2003).

Bazı larvalarda simbiyotik bakterilerin rol aldığı düşünülmektedir. Odunsu bitki dokularında yaşayan böcekler çoğu kez selüloz sindiren mikroorganizmalara bağımlı olmaktadır. Odun yiyici Lepidoptera taksonları, başlıca canlı ağaçların odun özü ve iç kabuğu ile beslenmektedirler. Bazı türlere ait larvalar, mum bileşenlerinin parçalanmasına neden olabilen bağırsak bakterisine sahiptirler (Fischer, 2003).

2.5.1.1.6. Büyüme, yenilenme ve metamorfoz

Deri değiştirmenin başlangıcında, küçük farklanmamış (kök) hücreler hızla çoğalmakta ve farklılaşmış hücreler sayıca artmaktadır. Farklanmamış hücrelerin çoğu sonradan farklılaşmakta ve farklılaşmış hücrelerin arasına girmektedirler. Birkaçı farklılaşmadan kalıp sonraki deri değiştirmeden önce yeni bir hücre bölünmesinin tetiklenmesine yol açmaktadırlar. Kök hücrelerin büyümesi ve farklılaşmasıyla eř zamanlı olarak olgun prizmatik hücreler sitoplazmik kütlelerini apikal bölümden vesiküller halinde dışarı vererek azaltmaktadırlar. Larval-pupal deri değiştirmeden önce rejeneratif hücreler eski epitelin aşağısında tam bir epitel oluşturmaktadırlar ve eski tabaka pupal bağırsak lümenine atılmaktadır. Pupal epitel erginde tutulur fakat sitoplazmanın lümeneye dökölmesiyle hücre büyüklüğü azaltılmaktadır (Fischer, 2003).

2.5.1.2.Sindirim sistemi- Ergin

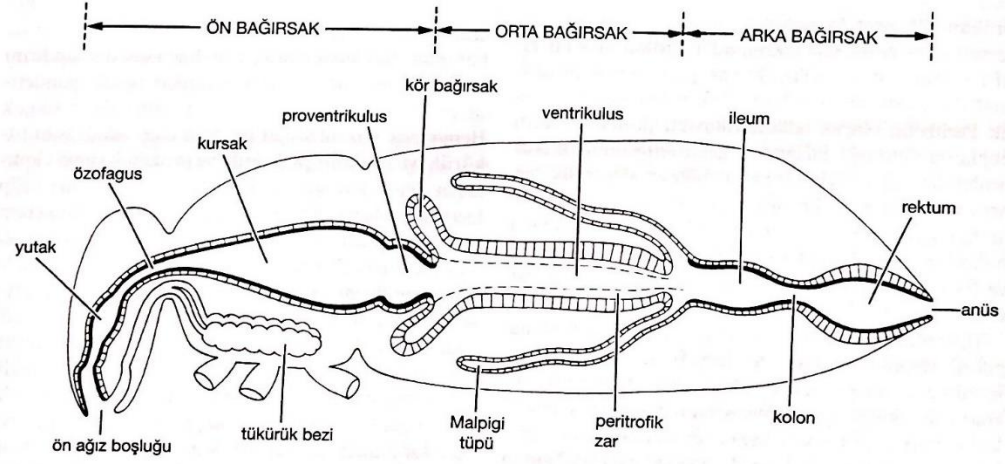
Pieris brassicae'de ergin sindirim sistemi ön, orta ve arkabağırsak olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır (Gullan & Cranston, 2012).

2.5.1.2.1.Önbağırsak

Bazı ilkel Lepidoptera gruplarında önbağırsak kısadır ve mezotoraksa uzanan basit bir tüp şeklindedir (Fischer, 2003).

Kursakta intimanın üst bölgesinde dikenler gözlenmektedir. Proventriculus stomodeal kapakçıkla korunan küçük bir açıklık aracılığıyla ortabağırsağa açılmaktadır. Ortabağırsak lümenine uzanmakta olan stomodeal kapakçık iyi gelişmiştir ve kübik epitel ile döşenmektedir. Önbağırsak ve ortabağırsak bağlantısında proventrikular diş, yastık veya çıkıntı gibi özel bir yapı bulunmamaktadır (Gaikwad, 2011).

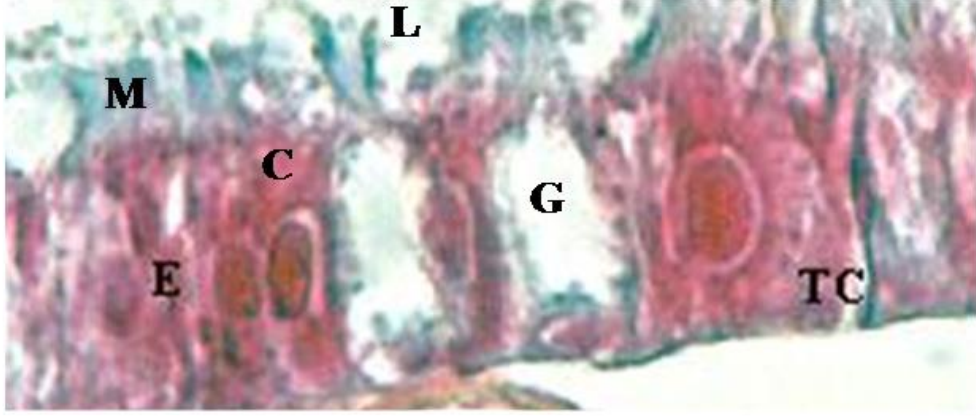
Ergin Lepidoptera'nın kursağı çok büyük olabilir. Aktif olarak beslenen taksonlarda, içleri bir dereceye kadar hava dolu olsa bile, kursak besin deposu gibi hizmet etmektedir (Fischer, 2003).



Şekil 2. 5. *Pieris brassicae* ergin sindirim sisteminin genel görünüşü (Gullan & Cranston, 2012)

2.5.1.2.2. Ortabağırsak

Lepidoptera’da ortabağırsak epitelı dört tip hücreden meydana gelmektedir. Bu hücreler enzimlerin salgılanması ve emilim faaliyetlerinde görev yapan prizmatik hücreler, iyon homeostasisini sağlayan goblet hücreleri, endokrin fonksiyonundan sorumlu endokrin hücreler ve epitelin yenilenmesini sağlayan rejeneratif hücrelerden oluşmaktadır (Şekil 2. 6). Rejeneratif hücreler farklılaşmamıştır ve sindirim faaliyeti sırasında yıpranan ve kaybolan hücrelerin yerini alarak ortabağırsak epitelinin yenilenmesinden sorumludur. Ayrıca her deri değişirmede sindirim kanalı genişlemektedir. Ortabağırsak tabanında tek veya gruplar halinde bulunmaktadır ve ortabağırsak boyunca sayıca farklılık göstermemektedirler. Sindirim kanalındaki (özellikle ortabağırsak bölgesinde) değişiklikler, tüm fizyolojik olaylar kadar böceklerin büyüme ve gelişimini de etkileyebilmektedir. Çünkü bu faaliyetler yeterli besine, sindirim kanalındaki emilimine ve dönüşümüne bağlı olmaktadır (Knaak vd, 2012).



Şekil 2. 6. Lepidoptera’da bulunan hücre tipleri. L: lümen, TC: bağ doku, E: epitel, C: prizmatik hücreler, G: goblet hücreleri (Knaak vd, 2012)

Kısa, düz ve silindirik bir tüp olan ortabağırsak, dördüncü abdominal segmente kadar uzanmaktadır. Önbağırsak ve ortabağırsak bağlantısı, önbağırsağın ortabağırsağa invaginasyonundan dolayı ortabağırsak genişlemektedir (Şekil 2. 5). Yağ dokuyla çevrili, çok sayıda trake bulunmaktadır. Ortabağırsak dışta boyuna, içte halkasal ince bir kas tabakasıyla çevrilmiştir. Emilim artırmak için, epitel enine ve uzunlamasına katlantılar oluşturmaktadır. Katlantılar, ön bölümde arka bölüme göre daha yoğun olarak bulunmaktadır. Epitel hücreleri prizmatik, oval çekirdekli hücrelerdir. Sitoplazmalarında salgı granülleri yoğundur ve holokrin tip salgılama yapılmaktadır. Bazal membran kesintilidir. Rejeneratif hücreler, prizmatik epitel hücrelerinin bazal bölgesinde yer almaktadır. Alınan besinler, peritrofik membranla sarılmış olarak bulunmaktadır (Gaikwad, 2011).

2.5.1.2.3. Arkabağırsak

Arkabağırsak pilorus, ileum ve rektum olmak üzere üç bölgeye ayrılmaktadır (Şekil 2. 5). Arkabağırsak, önbağırsak zarından daha geçirgen olan, ince (~ 10µm) bir kutikular zar ile kuşatılmaktadır (Chapman, 2013).

Ortabağırsak ile arkabağırsak arasında pilorik bir kapakçık bulunmaktadır. Arkabağırsak, dış kas tabakası, orta epitel ve iç zardan oluşmaktadır. Epitel, ileum içerisinde birkaç düzensiz katlantı ve kolonda karakteristik altı katlantıdan oluşmaktadır. İleum epiteli, kalın düzensiz zara sahip kaynaşmış hücrelerle döşenmiştir. Kolon epiteli tek tabakalı, vakuollü kübik hücrelerden oluşmaktadır ve. Epitel çekirdeği oval veya yuvarlaktır ve bazal membran belirgindir. Kolon zarı ince ve buruşuk görünümlüdür. İleum ve kolonun halkasal ve boyuna kasları ortabağırsak

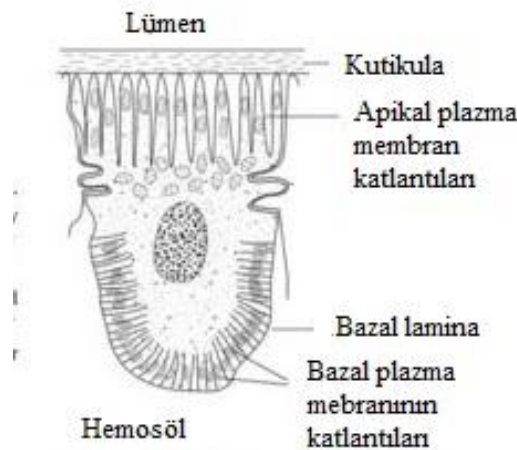
kaslarından daha kalındır. Rektal bezler, çift tabakalı kübik epitel hücrelerden oluşan intimanın altında, rektal epitel boyunca dağılmış olarak bulunmaktadır. Çekirdek büyük, ovaldir, hücre sınırları belirgin değildir. Arka tarafta, rektum daha kaslı, tüp şeklindedir ve rektal bezlerden yoksundur. Rektal kesenin epiteli, granüler sitoplazmalı ve koyu boyanmış çekirdekli kübik hücrelerden oluşmaktadır. Bazal membran dış taraftan intima, iç kısımdan epiteli sınırlamaktadır (Gaikwad, 2011).

2.5.1.2.3.1. Pilor

Pilor, Malpighi tüplerinin bağırsağa giriş bölgesidir. Bu nedenle pilor, ortabağırsaktan gelen besin kalıntılarının ve Malpighi tüplerinin sekresyonunun karıştığı bölgedir. Pilor, halkasal kaslarla çevrilmiştir ve sfinkter olarak görev yapmaktadır (Chapman, 2013).

2.5.1.2.3.2. İleo-kolon (İleum)

İleo-kolon kısa bir tüptür. Lepidoptera üyelerinde rektum ve ortabağırsağın posterior ucu arasında düz bir bağlantı oluşmuştur. Bağırsak duvarının güçlü boyuna katlantıları, boş olduğunda lümeni neredeyse tıkamaktadır. Epitel basittir, bazen tek tip hücre bulunmaktadır (Şekil 2. 7). Apikal plazma membranında katlantılar bulunmaktadır. İleo-kolon ve rektum arasında özellikle gelişmiş bir sfinkter yoktur (Fischer, 2003; Chapman, 2013).



Şekil 2.7. İleum hücreleri (Chapman, 2013)

İleum epitelinin apikal bölümünde çok sayıdaki membran katlantıları arasında bol miktarda mitokondri bulunmaktadır (Chapman, 2013).

2.5.1.2.3.3. Rektum

Ergin Lepidoptera’da rektum, geniş bir anterior rektal kese ve terminal anal bir deliğe açılan kısa bir posterior kanaldan oluşmaktadır. Ergin Lepidoptera rektumundaki rektal şişkinlikler, suyun ve çözünmüş maddelerin geri emilim alanları olarak tanımlanmaktadır (Chapman, 2013).

Lepidoptera rektal şişkinlikleri, düz veya yuvarlağımsı hatlı, kubbemsi yapıdadır. Apikal korteks geniş ve çoğu kez loblu çekirdeğe sahip çok büyük hücrelerden oluşmaktadır. Kortikal hücrelerin oluşturduğu kutikular iç zar, bitişik hücrelerin oluşturduğu iç zardan daha kalın olmaktadır. Her rektal şişkinliğin bazal iç bölgesi iki hücre tabakasından oluşmaktadır. Bu hücreler daha az düzleşmiştir ve çevre epitelinkinden belirgin çekirdeğe sahiptir. Korteks ve medulla, genellikle, infundibulum olarak bilinen açık bir boşlukla ayrılmaktadır (Fischer, 2003).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmamızda *Pieris brassicae* örnekleri öncelikle araziden toplanmış ve laboratuvar ortamında yetiştirilmiş ve daha sonra >histolojik doku takibi uygulanmıştır. Yetiştirilen *Pieris brassicae* örneklerinden 125 tanesi larva, 125 tanesi ergin çalışmaları için kullanılmıştır.

3.1 Örneklerin Toplanması ve Yetiştirilmesi

Samsun iline bağlı Taflan beldesi civarında lahanaya bahçelerinde inceleme yapmak suretiyle, 2015 yılı 15 Haziran ve 15 Temmuz tarihleri arasında lahanaların yaprak alt yüzeylerine bırakılmış olan *Pieris brassicae* yumurtaları yaprakla birlikte toplandı. Toplanan tüm örnekler daha önceden hazırlanmış olan insektaryuma yerleştirildi.

Insektaryum, büyük bir plastik kabın kapağının çıkartılıp yerine tül gerilmesiyle hazırlandı (Şekil 3.1.). İki ayrı grup oluşturuldu. Insektaryum içerisine, araziden toplanmış olan ve üzerinde yumurta bulunan lahanaya yaprakları yerleştirildi. Yumurtadan çıkmaları beklendi. Yumurtadan çıkan tırtılların beslenmeleri için insektaryum içine her gün taze lahanaya yaprakları konuldu. Laboratuvar ortamında oda sıcaklığında bekletilerek gelişmeleri izlendi (Şekil 3. 2). Birinci grup için 5. larva evresinin son döneminde disseksiyon işlemine geçildi. İkinci grup örneklerin pupa oluşturması sonrasında ergin bireyler elde edildi. Ergin kelebeklerin beslenmeleri için pamuğa emdirilmiş 1:1 oranındaki bal+su karışımı insektaryum içerisine yerleştirildi. Günlük olarak değiştirilmek suretiyle besinler tazelandı.



Şekil 3. 1. *Pieris brassicae* yetiştirilirken kullanılan insektaryum



Şekil 3. 2 İnsektaryumda hayat döngüsü

3.2. Örneklerin Diseksiyonu

Diseksiyon işlemi binoküler mikroskop altında yapıldı (Leica EZ4) Örneklerin çıkarılması sırasında Ringer solusyonu kullanıldı (Şekil 3.3). Çevre dokular temizlenerek sindirim kanalı zedelenmeden dikkatlice bütün olarak alındı (Şekil 3.4). Larva ve erginlere aynı işlem uygulandı.



Şekil. 3.3.Ringer solüsyonuna alınmış örnekler

Ringer solüsyonu aşağıdaki prosedüre göre hazırlandı:

Sodyum laktat 0,31 gr

Sodyum klorür 0,60 gr

Potasyum klorür 0,03 gr

Kalsiyum klorür 0,02 gr

Saf su (100 ml'ye tamamlayana kadar)



Şekil 3. 4. Larva diseksiyonu ve çıkarılan larva sindirim kanalı

3.3. Çalışmada Kullanılan Aletler

Etüv, Sartorius CP 224 S hassas terazi, Electromag M 6040 BP inkübatör, Reichert-Jung 2030 Rotary mikrotom, Yellowline MSH ısıtıcı, Cyberscan 500 pH metre, Parafin su banyosu, Leica DFC görüntü aktarım aparatı, Leica DM 1000 ışık mikroskobu, Medax parafin ısıtıcı, Leica EZ4 binoküler mikroskop, Dell Inspiron bilgisayar kullanılmıştır.

3.4.Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda histolojik doku takibi, bloklama ve boyama işlemlerinde kullanılan kimyasal maddeler: di sodyum hidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sodyum di hidrojen fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) Carlo Erba firmasından; absolü etil alkol, formaldehit, kresyl violet, ksilen ve glasiyal asetik asit Sigma-Aldrich firmasından; entellan, parafin Merck firmasından temin edildi.

3.5. Doku Takip İşlemi

Doku takip işlemlerinde ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu için örnekler ayrı ayrı işlemlere tabi tutulmuştur.

3.5.1 Işık mikroskobu için örneklerin hazırlanması

Diseksiyonla çıkarılan sindirim kanalı, tespit edilmek üzere %10'luk tamponlanmış nötral formalin içerisine alındı (Şekil 3. 5).



Şekil 3. 5.Tespit sırasında dokular

3.5.1.1. %10'luk tamponlanmış nötral formalin hazırlanması

- Na_2HPO_46.5 gr
- NaH_2PO_44 gr
- Formaldehit.....100 ml
- Distile su.....900 ml

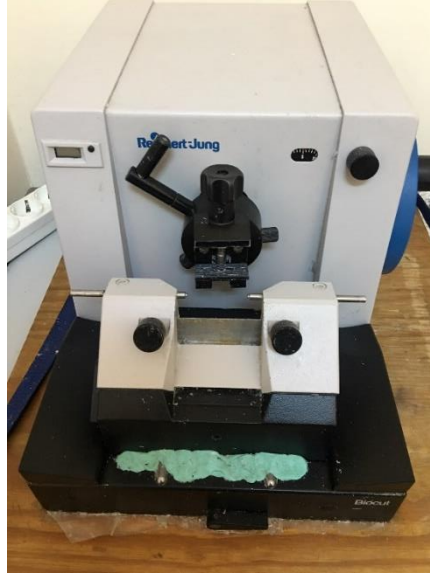
3.5.1.2. Parafine gömme işlemi

- Dokular %10'luk tamponlanmış nötral formalin sıvısında 12 saat tespit edildi.
- Tespit aşaması tamamlanan dokular, doku kasetlerine alındı ve etiketlendi.
- Bir gece akar suda yıkamaya alındı.

- %70'lik alkolde bir saat bekletildi.
- %80'lik alkolde bir saat bekletildi.
- %90'lık alkolde bir saat bekletildi.
- %96'lık alkolde bir saat bekletildi.
- %100'lük alkolde bir saat bekletildi.
- %100'lük alkolde bir saat bekletildi.
- 1. ksilende 30 dakika bekletildi.
- 2. ksilende 30 dakika bekletildi.
- Ksilen + parafin'de 45 dakika bekletildi.
- 1. parafinde 60°C'a ayarlanmış etüv içerisinde bir saat bekletildi.
- 2. parafinde 60°C'a ayarlanmış etüv içerisinde bir saat bekletildi.
- 3. parafinde 60°C'a ayarlanmış etüv içerisinde bir saat bekletildi.
- İşlemlerin sonunda L demirleri kullanarak dokular parafin içerisine gömülüp etiketlendi.

3.5.1.3. Örneklerden Kesit Alınması

Parafin bloklara gömülmüş olan doku örneklerinden Rotary mikrotom aracılığıyla 5µm kalınlığında alınan kesitler, lamalar üzerine alındı (Şekil 3. 6).



Şekil 3. 6. Rotary mikrotom (Reichert - Jung)

3.5.1.4.Örneklerin Boyanması

Parafin bloklardan alınan kesitler, beş farklı boyama metodu kullanarak boyandı (Bancroft & Stevens, 1996).

- Hematoksilen- eozin
- Periyodik asit Schiff (PAS)
- Masson'un üçlü boyaması
- Gümüşleme
- PAS-Alcian Blue

Hematoksilen-Eozin ile kesitlerin boyanması

- Birinci ksilende 10 dakika bekletildi.
- İkinci ksilende 10 dakika bekletildi.
- Kurutma yapıldı.
- %100'lük alkolde üç dakika bekletildi.
- %96'lık alkolde üç dakika bekletildi
- %90'lık alkolde üç dakika bekletildi
- %80'lik alkolde üç dakika bekletildi

- %70'lik alkolde üç dakika bekletildi
- Akarsuda beş dakika yıkandı.
- Mayer'in hematoksisleninde üç dakika bekletildi.
- Yıkama yapıldı.
- Amonyaklı suya daldırılıp çıkartıldı.
- Yıkama yapıldı.
- %75'lik alkolde iki-üç saniye bekletildi.
- Eozin'de beş saniye bekletildi.
- %70'lik alkole daldırılıp çıkartıldı.
- %80'lik alkole daldırılıp çıkartıldı.
- %90'lık alkole daldırılıp çıkartıldı.
- %96'lık alkole daldırılıp çıkartıldı.
- %100'lük alkole daldırılıp çıkartıldı.
- Kurutma yapıldı.
- Ksilende bekletildi.
- Kapatma yapıldı.

Periyodik asit Schiff (PAS) ile kesitlerin boyanması

- 5 µm kalınlığındaki kesitler deparafinize edilerek distile suya alındı.
- Periyodik asit içerisinde beş dakika tutuldu.
- Distile suda iyice yıkandı.
- Schiff solüsyonuyla üstü örtülerek 15 dakika bekletildi.
- Akan su altında 5-10 dakika yıkandı.
- Harris hematoksislen ile çekirdekler boyandı.
- Suda yıkandı.

- Saf alkolde çalkalandı.
- Ksilende ŐeffaŐlaŐtırıldı ve kapatıldı.

Sonuçlar:

Asit musinler	mavi
Proteoglikanlar ve hyaluronik asit	mavi
Çekirdekler	kırmızı

Masson'un l boyaması ile kesitlerin boyanması

- Hazırlanan preparatlar 60°C'lik etüvde 1 saat kadar bekletildi.
- Daha sonra preparatlar 15'er dakika, iki farklı ksilen içerisinde tutularak parafinin uzaklaŐması sağlandı.
- Dokular er dakika süreyle alkol serilerinde (%100, %100, %96, %90, %80, %70) tutuldu.
- Akan suda 5 dakika yıkandı.
- Saf su içerisinde 1 dakika bekletildi.
- Preparatlar 56 °C'lik etüvde Bouin zeltisi içerisinde 30 dakika tutuldu.
- Etüvden çıkarıldıktan sonra sarı renk gidene kadar akan su altında yıkandı.
- 7 dakika boyunca Weigert'in demirli hematoksileninde bekletildi.
- Akan suda 5 dakika tutuldu.
- Saf suda 1 dakika çalkalandı.
- Biebrich scarlet asit fuksin çözeltisinde 2 dakika bekletildi.
- Saf suda 1 dakika çalkalandı.
- Preparatlar fosfomolibdik–fosfotungstik asit çözeltisinde 10 dakika bekletildi.
- Anilin mavisi çözeltisinde 5 dakika bekletildi.
- Saf suda 1 dakika çalkalandı.
- %1'lik glasiyal asetik asit çözeltisinde 1 dakika bekletildi.
- Akan suda yıkandı.
- %96'lık alkolde iki kez beŐer dakika tutuldu.
- Kurutma işlemi yapıldı.
- Ksilende bekletilerek entellan ile kapatıldı.

Sonuçlar:

- | | |
|---------------------------------|---------|
| — Çekirdek | siyah |
| — Sitoplazma, kas, eritrositler | kırmızı |
| — Kolajen | mavi |

Gümüşleme ile kesitlerin boyanması

- Kesitler parafinden arındırılarak saf suya alındı.
- %0,5 KMnO_4 ile iki dakika oksidize edildi.
- Akan suda yıkandı.
- %0,5 okzalik asit çözeltisinde renksizleşinceye kadar 1-2 dakika tutuldu.
- Akan suda yıkandı.
- %4'lük ferrik kloritte 2 dk tutuldu.
- Akan suda 3 dakika yıkandı.
- Saf suda tutuldu.
- Örnekler, amonyaklı gümüş nitrat çözeltisi içerisinde 1-5 dakika tutuldu.
- Saf suda 20 saniye çalkalandı.
- %20'lik formalinde 1-3 dakika tutuldu.

Pas - Alcian Blue ile kesitlerin boyanması

- Kesitler saf suya alındı.
- Alcian blue boyasıyla 15 dakika boyandı.
- Akan su altında iki dakika iyice yıkandı.
- Saf suda çalkalandı.
- Periyodik asit içerisinde beş dakika tutuldu.
- Distile suda iyice yıkandı.
- Schiff ajanı ile 10 dakika boyandı.
- Akan su altında beş dakika iyice yıkandı.
- Çekirdekler hematoksilin ile bir dakika boyandı.
- Akan su altında iki dakika yıkandı

— Asit alkol ile farklılaştırıldı.

— Musluk suyunda yıkandı.

Sonuçlar:

Asidik musinler	mavi
Nötral musinler	magenta
Üsttekilerin karışımı	mavi/mor
Çekirdekler	koyu mavi

3.5.2. Transmisyon elektron mikroskobu için örneklerin hazırlanması

Transmisyon elektron mikroskobu için örnekler fiksasyon, postfiksasyon, dehidratasyon işlemlerinden geçirilmiş ve araldit resin içine gömülerek incelemeye hazır hale getirilmiştir.

3.5.2.1.Fiksasyon ve post fiksasyon

- Takip edilecek doku örnekleri gluteraldehit solüsyonuyla birlikte petri üzerinde, bistüri yardımıyla 1mm³'lük küçük parçalara ayrıldı
- Parçalar, %3'lük tamponlu gluteraldehit içine konuldu. +4°C'da bir saat fikse edildi.
- 0,1 M fosfat tamponuyla bir saat (4x15 dakika) yıkandı.
- Yıkama işleminden sonra tamponlu OsO₄ solüsyonunda oda sıcaklığında ve karanlıkta 1,5 saat post fiksasyon yapıldı.
- Tamponlu OsO₄'ten çıkarılan parçalar 0.1 M fosfat tamponuyla bir saat (4x15 dakika) yıkandı.

3.5.2.2.Dehidratasyon

- Yıkama sonrasında etil alkol ile serilerinden geçirilerek dehidratasyon yapıldı.

%35'lik etil alkolde 15 dakika

%50'lik etil alkolde 15 dakika

%70'lik etil alkolde 30 dakika

3.5.2.3. Dokuların araldit resin içerisinde gömülmesi

- Dehidratasyon sonrasında dokular propilen oksit içerisinde oda sıcaklığında iki kere 20 şer dakika bekletildi.
- 1 kısım propilen oksit + 1 kısım araldit içerisinde bir saat bekletildi.
- 1 kısım propilen oksit + 2 kısım araldit içerisinde bir saat bekletildi.
- Araldit içerisinde en az bir saat bekletildi.
- Hazırlanmış araldit, kapsüllere döküldü ve parçalar tek tek kapsüllere yerleştirildi.
- Bir gece desikatörde bekletildi.
- 45°C'ye ayarlanmış etüv içerisinde koyularak etüv sıcaklığı 30 dakika aralıklarla 5°C artırılarak 60-65°C'a sabitlendi. Bu sıcaklıkta 48 saat bekletildi.

Fosfat Tamponu

- 100 ml için 3,121 gr sodyum dihidrojen fosfat monobazik ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ve 3,561 gr disodyum hidrojen fosfat dibazik ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) olmak üzere 0,2 M'lık 50 ml fosfat tamponu hazırlandı.

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	38 ml
---	-------

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	12 ml
---	-------

- Hazırlanan 0,2 M fosfat tamponunun pH'ı 7,3-7,4'e ayarlandı.
- Hazırlanan 0,2 M'lık tampona 50 ml distile su ilave edilerek 100 ml 0,1 M'lık ikinci bir fosfat tamponu elde edildi.
- 0,1 M fosfat tamponu yıkama için kullanılırken, 0,2 M fosfat tamponu ozmiyum hazırlanmasında kullanıldı.

0,1 M %3'lük fosfat tamponlu gluteraldehit

— 0,2 M Fosfat tamponu	50 ml
— %25 Gluteraldehit	12 ml
— Distile su	38 ml

Fosfat tamponlu OsO₄

- 0,1 gr Osmium kapsülü kapalı kap içinde sallanarak kırıldı.
- 5 ml distile su ilave edildi.
- Bir gece buzdolabında bekletildi.
- 5 ml 0,2 M Fosfat tamponu eklenerek tamponlandı.

Araldit Hazırlanışı

Araldit CY212	10 ml
DDSA.....	10 ml
BDMA.....	0,4 ml
Dibütil phytalat.....	0,5 ml

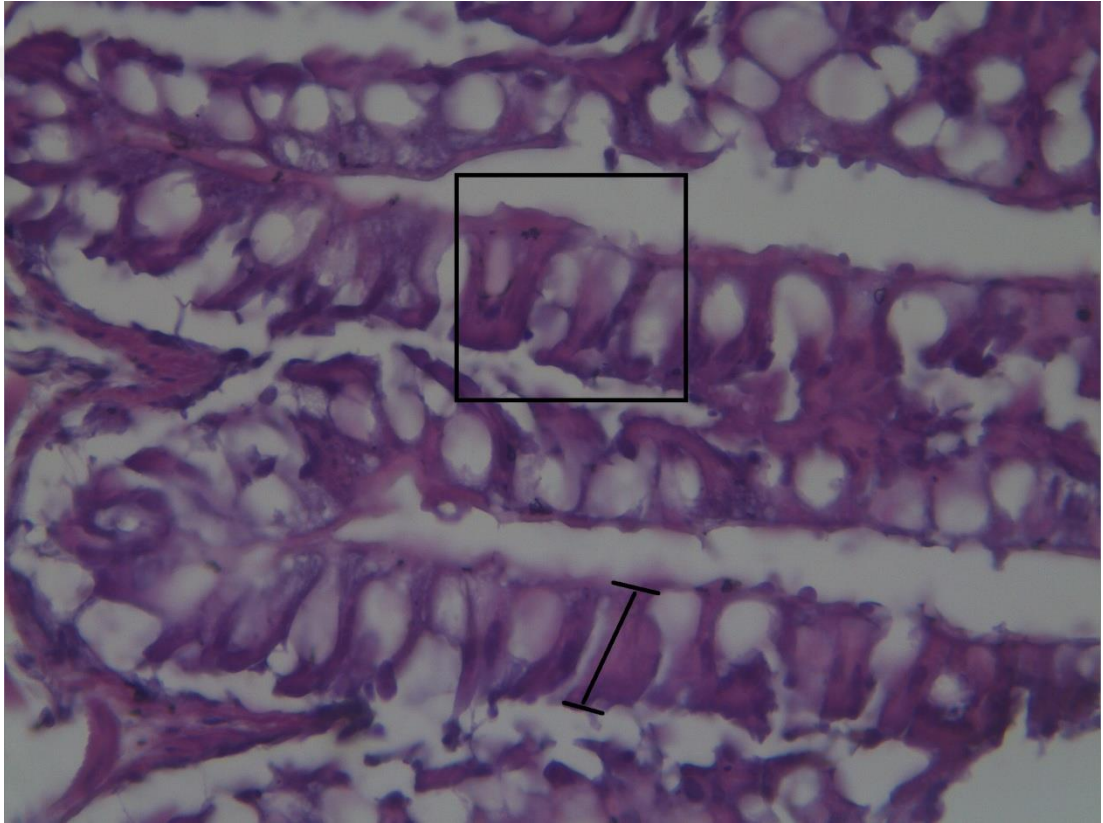
- Cam beherde karışım iyice karıştırıldı.
- Kabarcıkların gitmesi için oda sıcaklığında bekletildi.

3.6. İstatistiksel Analizler

Erginler ve larvaların sindirim sistemindeki epitel hücresi sayısı, goblet hücresi sayısı ve epitel hücresi yüksekliği ölçülerek aritmetik ortalamalar elde edilmiştir. Erginler ve larvalara ait verilerin normal bir dağılım gösterip göstermediklerini belirlemek için Shapiro-Wilk testi uygulanmıştır. Normal dağılım görüldüğü belirlendikten sonra IBM SPSS 23 paket programı aracılığıyla t-Testi ve One Way ANOVA “Tek Yönlü Varyans Analizi” kullanılarak epitel hücresi sayısı, goblet hücresi sayısı ve epitel hücresi yüksekliği bakımından larva ve ergin arasında karşılaştırma yapılmıştır. Varyansların eşit olduğu durumlarda Levene’s Varyans Eşitliği Testi uygulanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

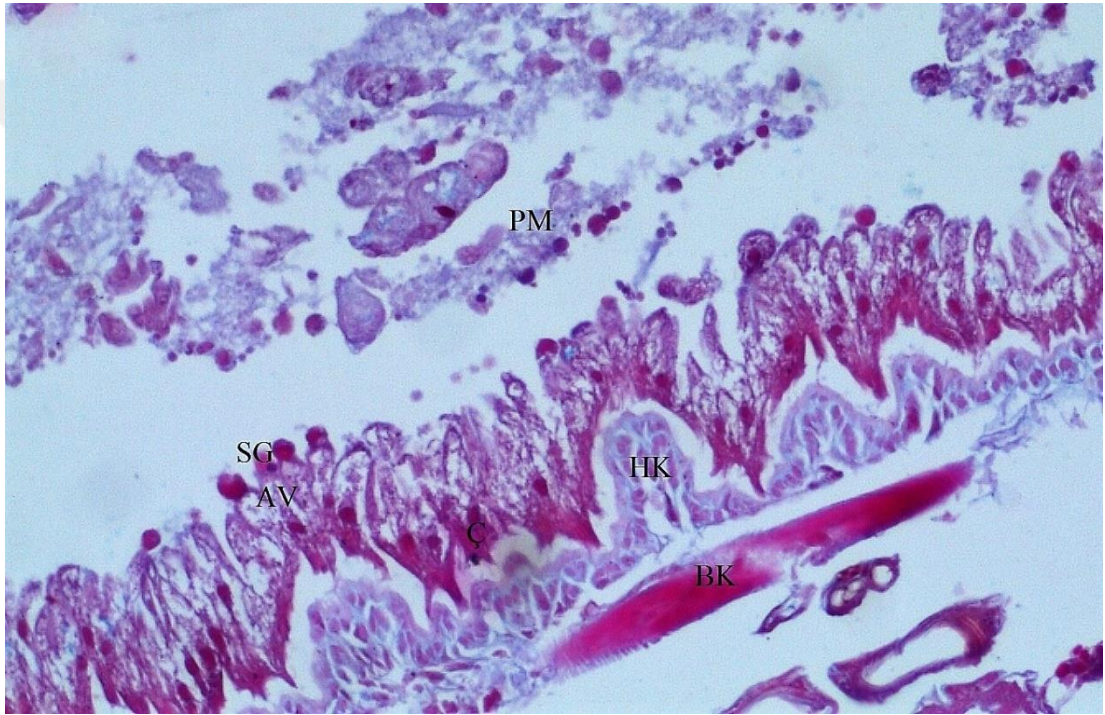
Mikroskopik incelemeler ve morfometrik ölçümler yapılarak larva ve ergin HE ile boyanmış preparatlar üzerinde karşılaştırılmalı olarak incelenmiş ve hücre sayıları ve yükseklikleri değerlendirilmiştir. Işık mikroskobu Leica DM 1000 ve kamera aperiati ile epitel hücresi yüksekliği, epitel hücresi sayısı ve goblet hücresi sayısı ölçölmüştür. Epitel hücre ve goblet hücre sayımı için $15\mu^2$ alan içinde, (X400 büyütmede) bulunan hücreler değeriendirmeye alınmıştır. Epitel hücre yüksekliği ölçümü için hücrenin basali ve apikali arasında kalan bölüm dikkate alınmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4. 1 Sayım alanı ve epitel hücre yüksekliği ölçümü

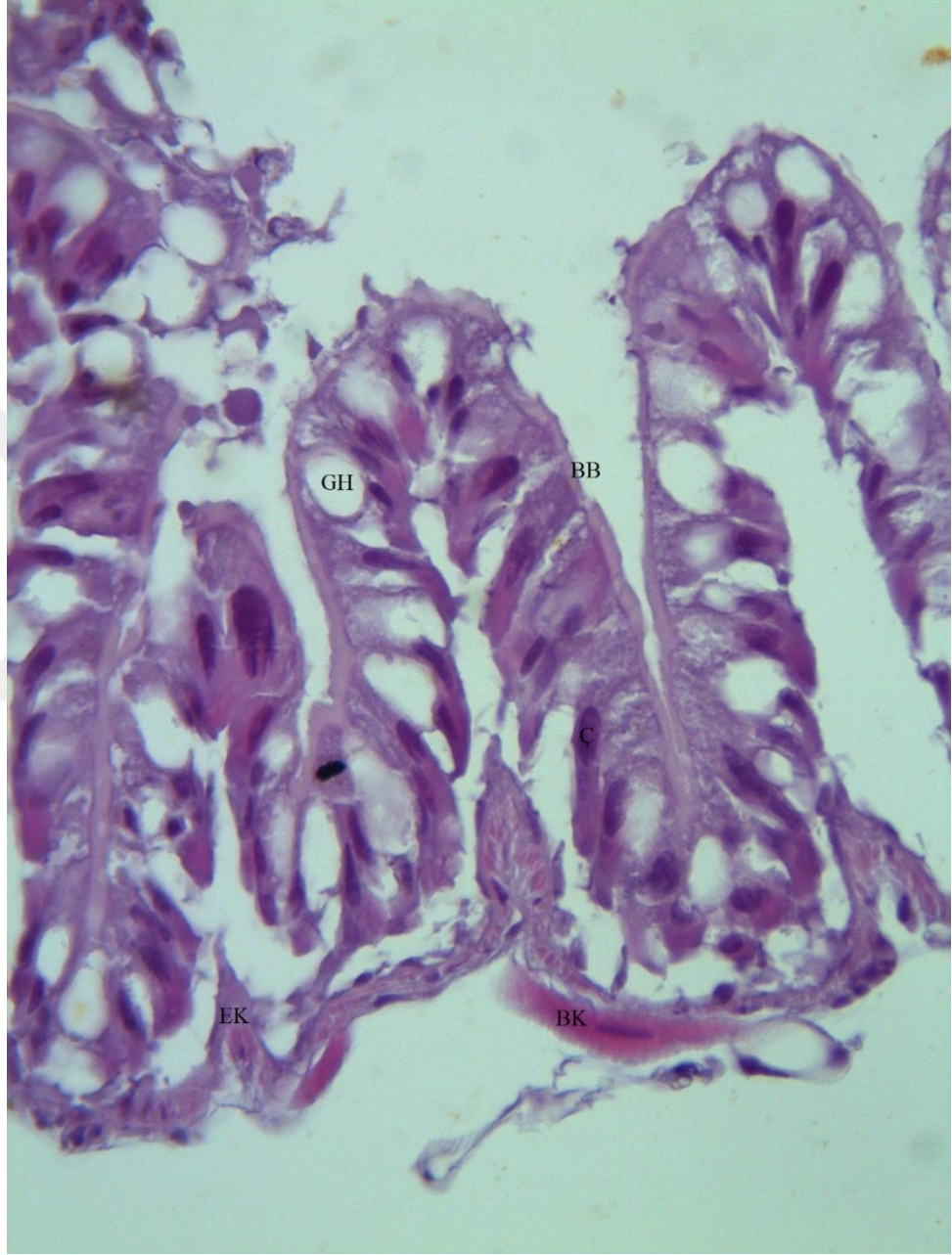
4.1. Mikroskopik Bulgular

Pieris brassicae ortabağırsağı tek tabakalı epitelden oluşan bir tüp şeklinde olduğu gözlenmiştir. Ortabağırsak epitelini prizmatik, goblet ve rejeneratif hücrelerin oluşturduğu görüntülenmiştir. Prizmatik hücrelerin bazofilik sitoplazmaya sahip olduğu, bazı örneklerde sitoplazmada vakuolün de bulunduğu görülmüştür. Apikal kısımda salgı granülleri bulunmakta ve çekirdeklerin de bazalda yerleşik olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.2).



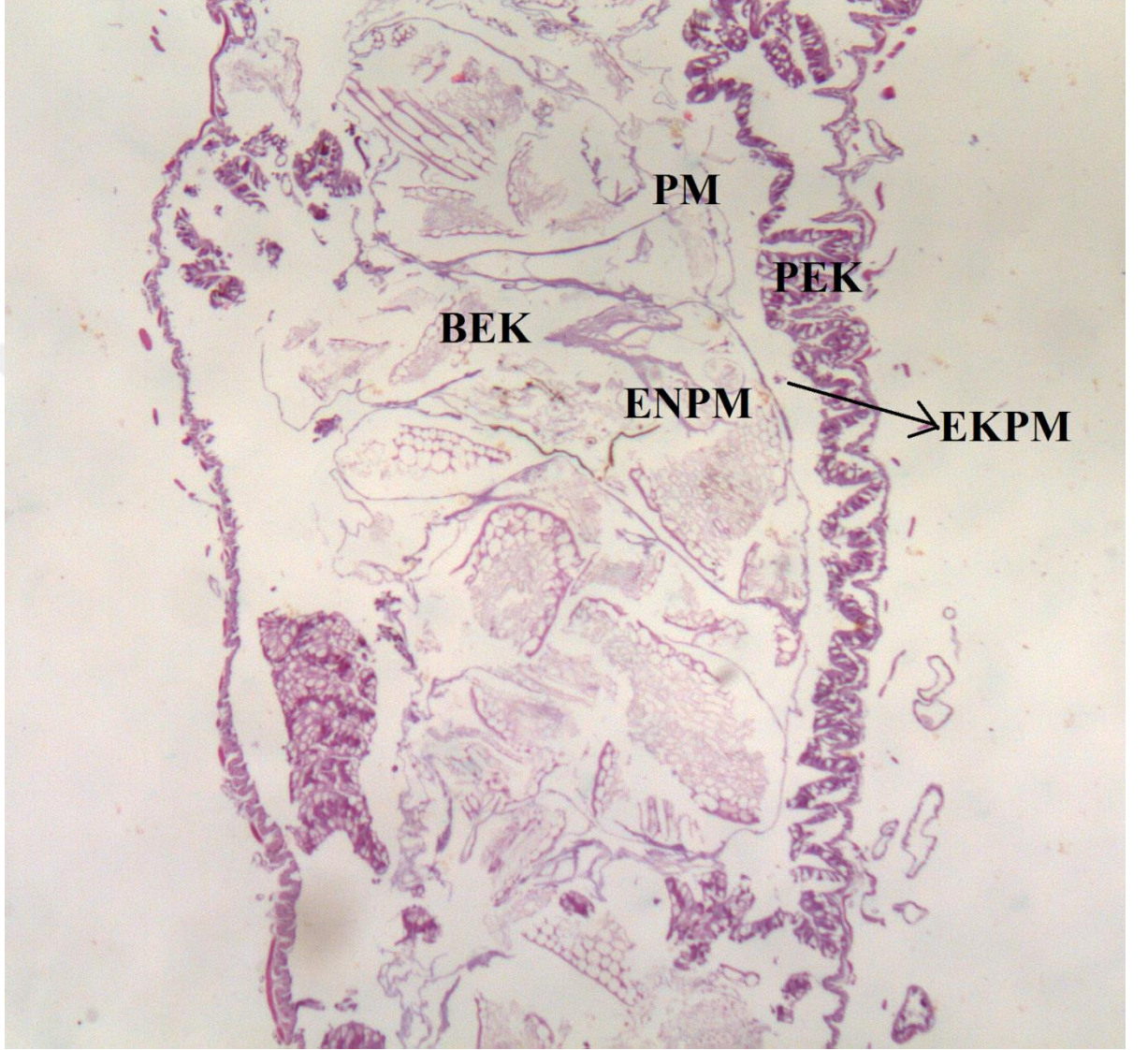
Şekil 4.2. Larva sindirim kanalı. AV: Apikal vesikül, BK: Boyuna kas, Ç: Çekirdek, HK: Halkasal kas, PM: Peritrofik membran, SG: Salgı granülü (PAS 200x)

Prizmatik hücrelerin apikalinde asidofilik fırçamsı kenar görülmektedir. Goblet hücrelerinin bazal bölgede yoğun sitoplazma ve oval çekirdeğe sahip kadeh biçimli olduğu gözlenmiştir (Şekil 4. 3).



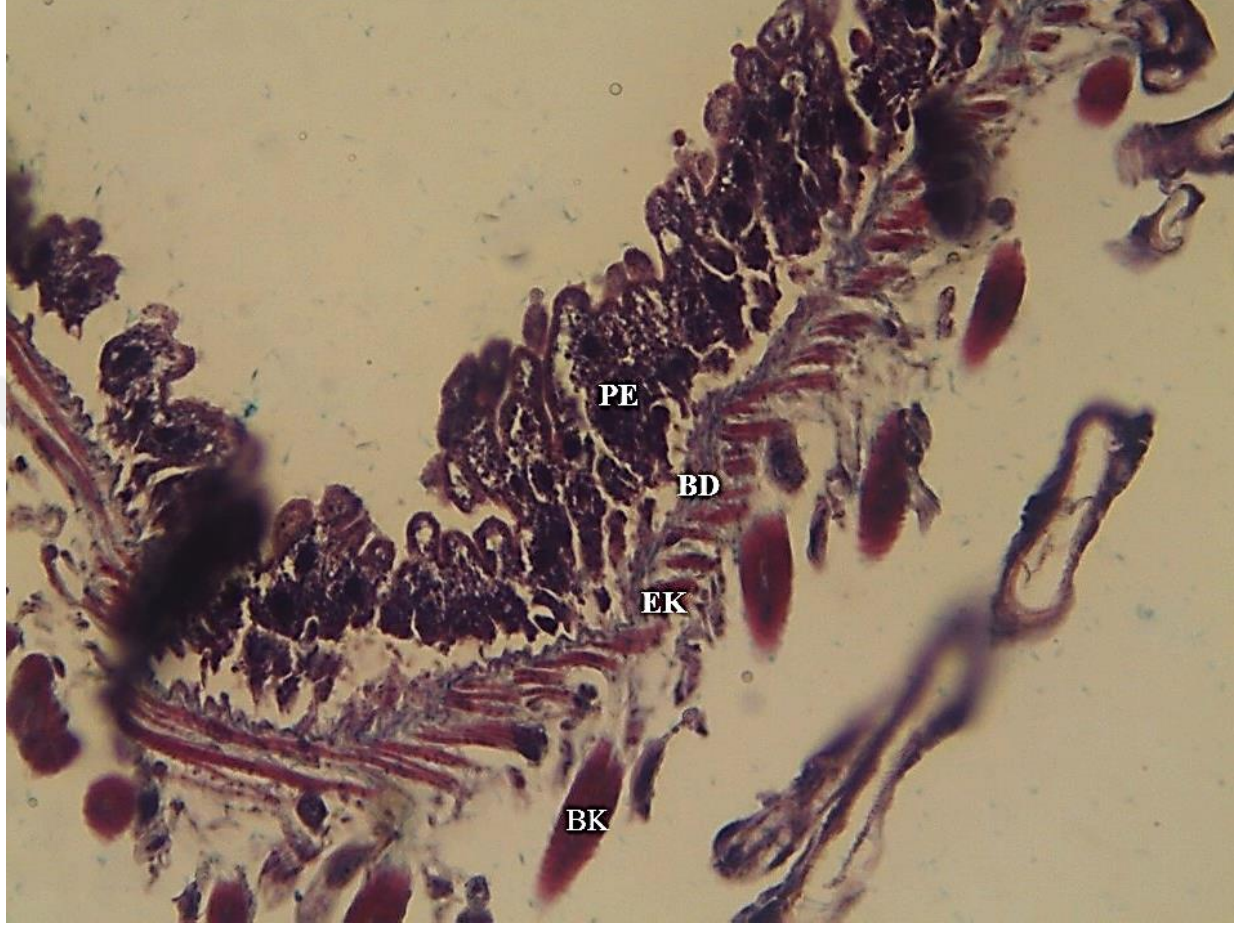
Şekil 4.3. Larva sindirim kanalı. BB: Fırçamsı kenar, BK: Boyuna kas, Ç: Çekirdek, EK: Enine kas, GH: Goblet hücresi (HE 40x)

Peritrofik zar, ortabağırsak lümeninde belirgin olarak görülmektedir (Şekil 4.4). Endoperitrofik ve ektoperitrofik membran bölgeleri de ayırtedilmektedir. Lümen, yarısı sindirilmiş besin içeriği ile doludur. Prizmatik epitel katlantıları sık olarak yer almaktadır.



Şekil 4.4. Larvada peritrofik membran. BEK: Besin kalıntıları, PEK: Prizmatik epitel katlantıları, PM: Peritrofik membran, EKPM: Ektoperitrofik membran, ENPM: Endoperitrofik membran (HE 4x)

Larva sindirim kanalı ortabağırsağında prizmatik epitel hücrelerinin bazal bölümünde Masson'un üçlü boyaması ile kollojen lifler belirgin olarak ayırt edilmektedir. Dış tarafta boyuna kas demetleri gözlenmektedir (Şekil 4. 5).



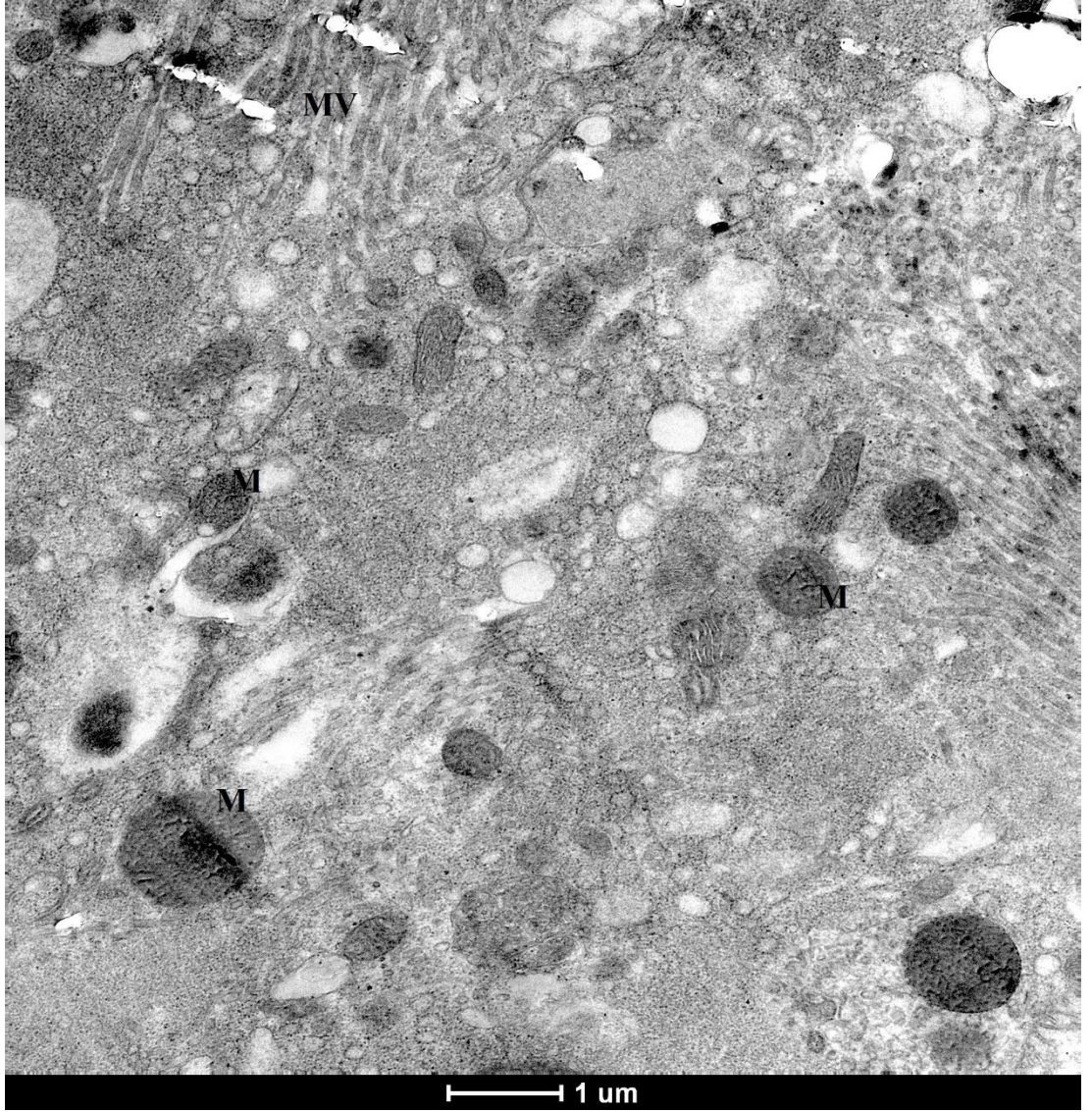
Şekil 4.5. Larvada sindirim kanalı, ortabağırsak. BD: Bağ doku, BK: Boyuna kaslar, EK: Enine kaslar, PE: Prizmatik epitel (TRI 40X)

Bazalda yerleşmiş olan rejeneratif hücrelerin ise küçük küremsi, bazen de uzamış halde olduğu görüntülenmiştir. Merkezde büyük, küresel bir çekirdek ve granüler sitoplazma içerdikleri gözlenmiştir (Şekil 4. 6).



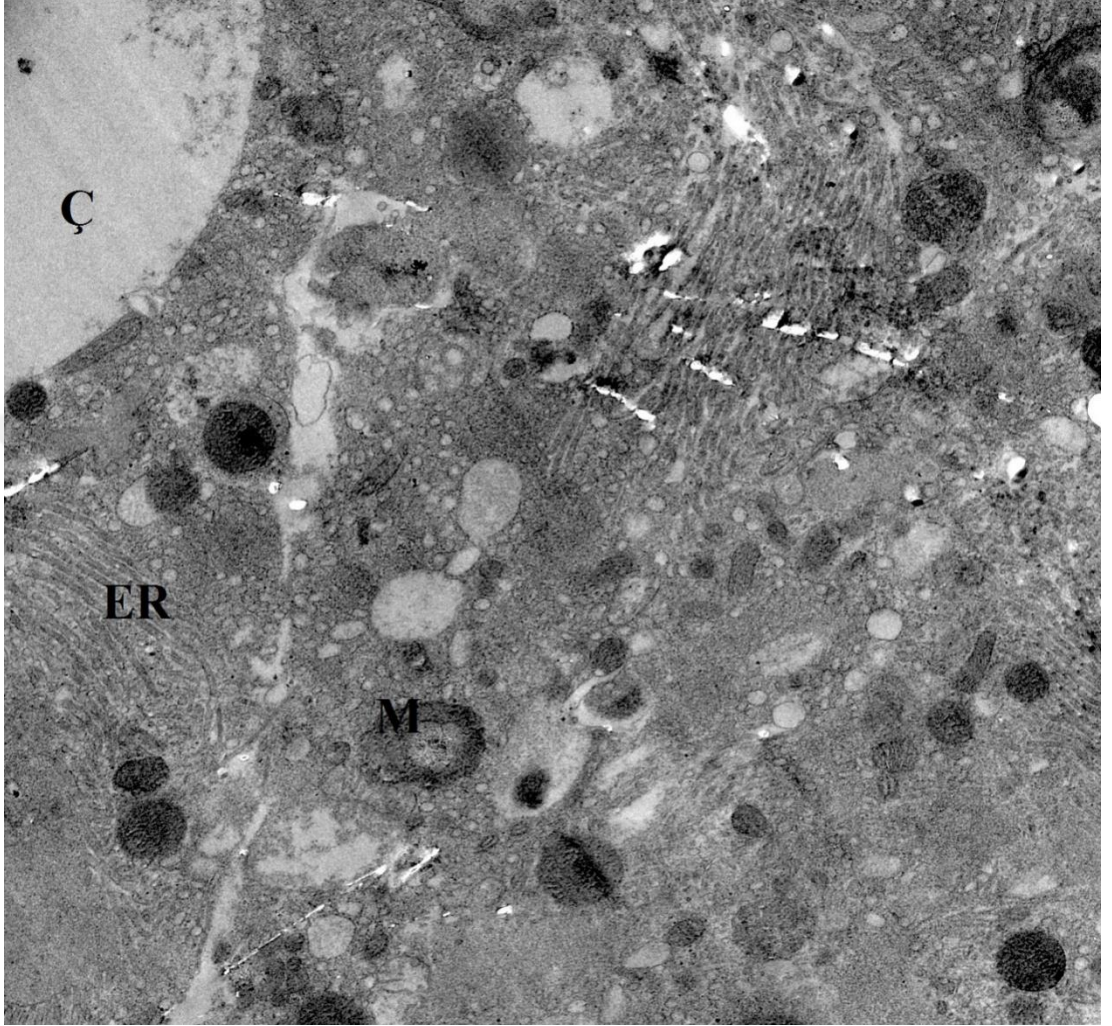
Şekil 4.6. Larvada rejeneratif hücreler. R: Rejeneratif hücre (HE 400X)

Larvaların TEM görüntülerinde mikrovillusların belirgin görüldüğü, apikal sitoplazmada ise bol mitokondrinin bulunduğu gözlenmiştir (Şekil 4. 7).



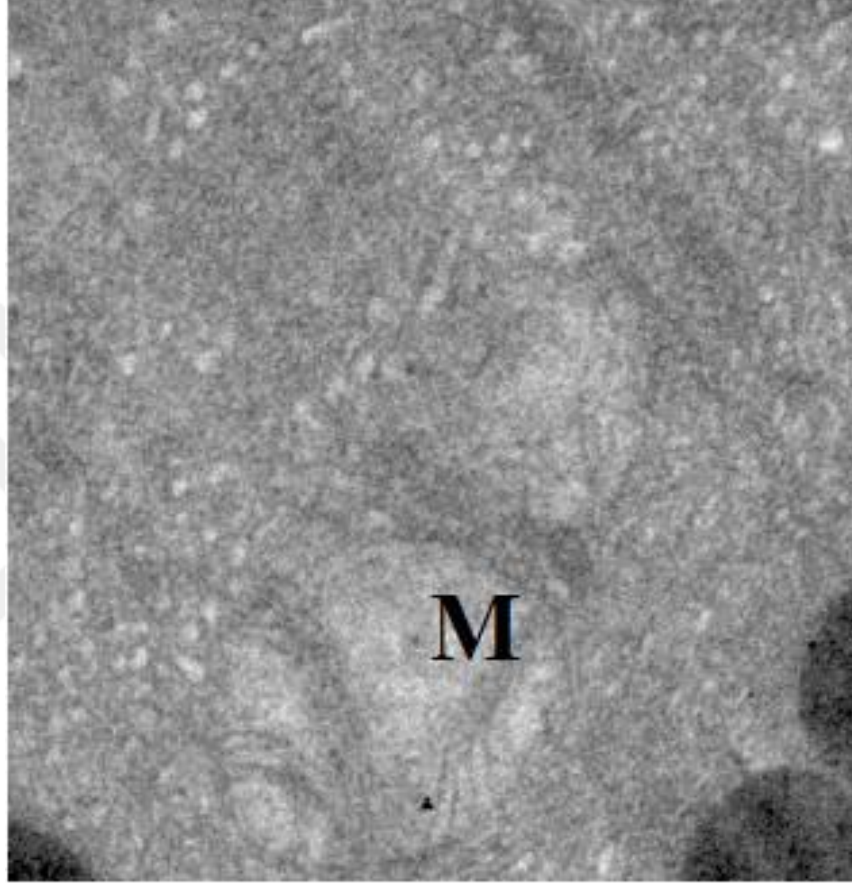
Şekil 4.7. Larva sindirim kanalı TEM görüntüsü. M: Mitokondri, MV: Mikrovillus

TEM ile yapılan incelemelerde larvalarda endoplazmik retikulumlar düzgün paralel yapılar halinde belirgin olarak görülmekteydi (Şekil 4.8).



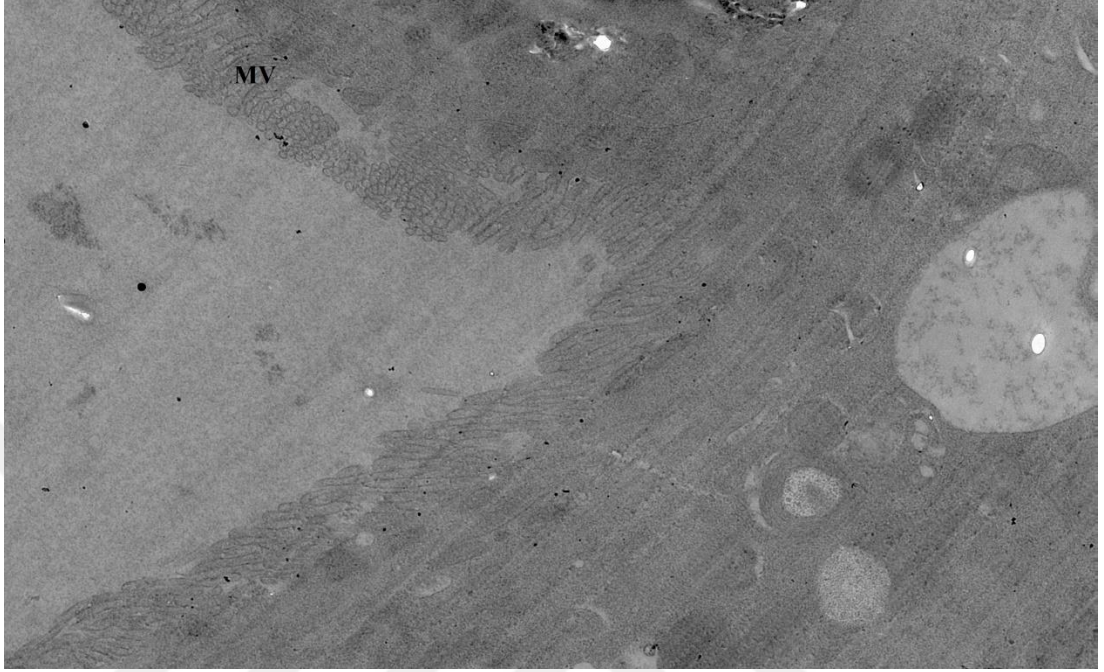
Şekil 4.8. Larva sindirim kanalı TEM görüntüsü. Ç: Çekirdek, ER: Endoplazmik Retikulum, M: Mitokondri

Larva TEM görüntülerinde mitokondriler belirgin olarak görülmekteydi. Mitokondrilerin kristalları birbirine paralel fakat farklı yönlerde yer alan kümeler halinde gözlenmekteydi. Matriks bazı bölgelerde yoğun olarak yer almaktaydı (Şekil 4. 9).

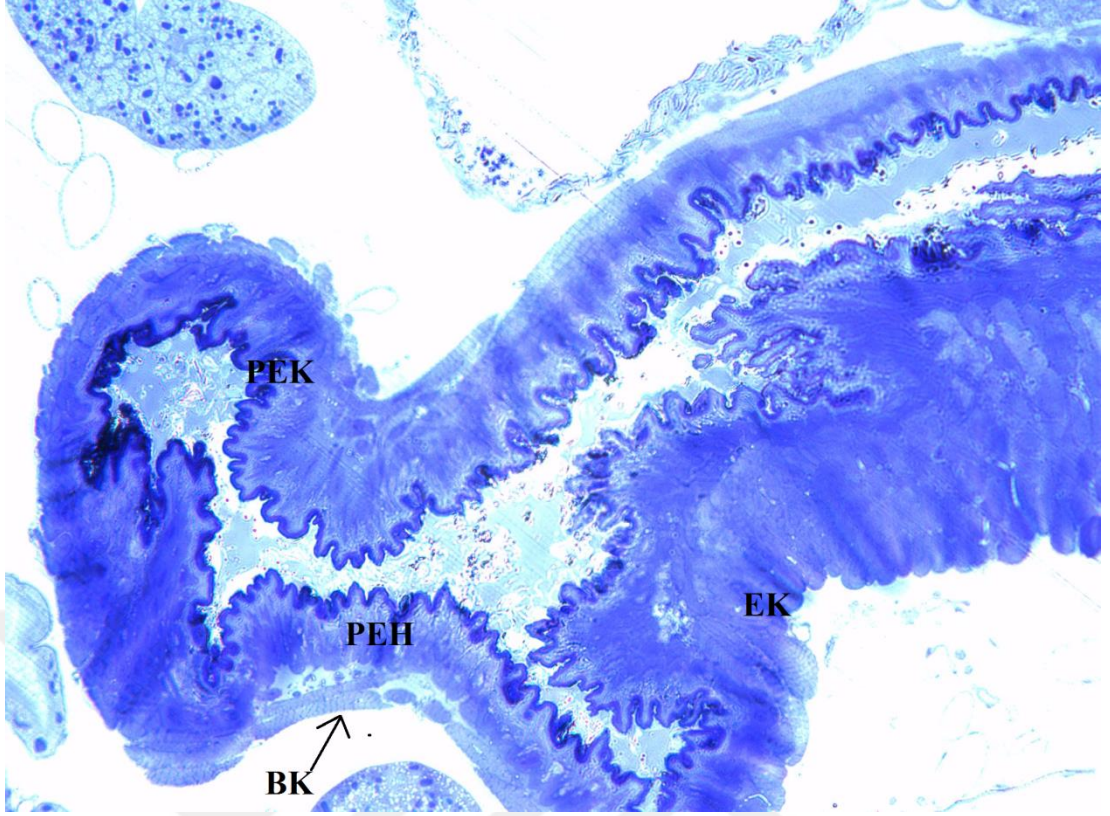


Şekil 4.9. Larva TEM kesitlerinde mitokondri görünümü. M: Mitokondri

Larvalarda TEM görüntülerinde hücrelerin apikal tarafında mikroviluslar birbirine paralel, yoğun kümeler halinde belirgin olarak görülmekteydi (Şekil 4. 10).

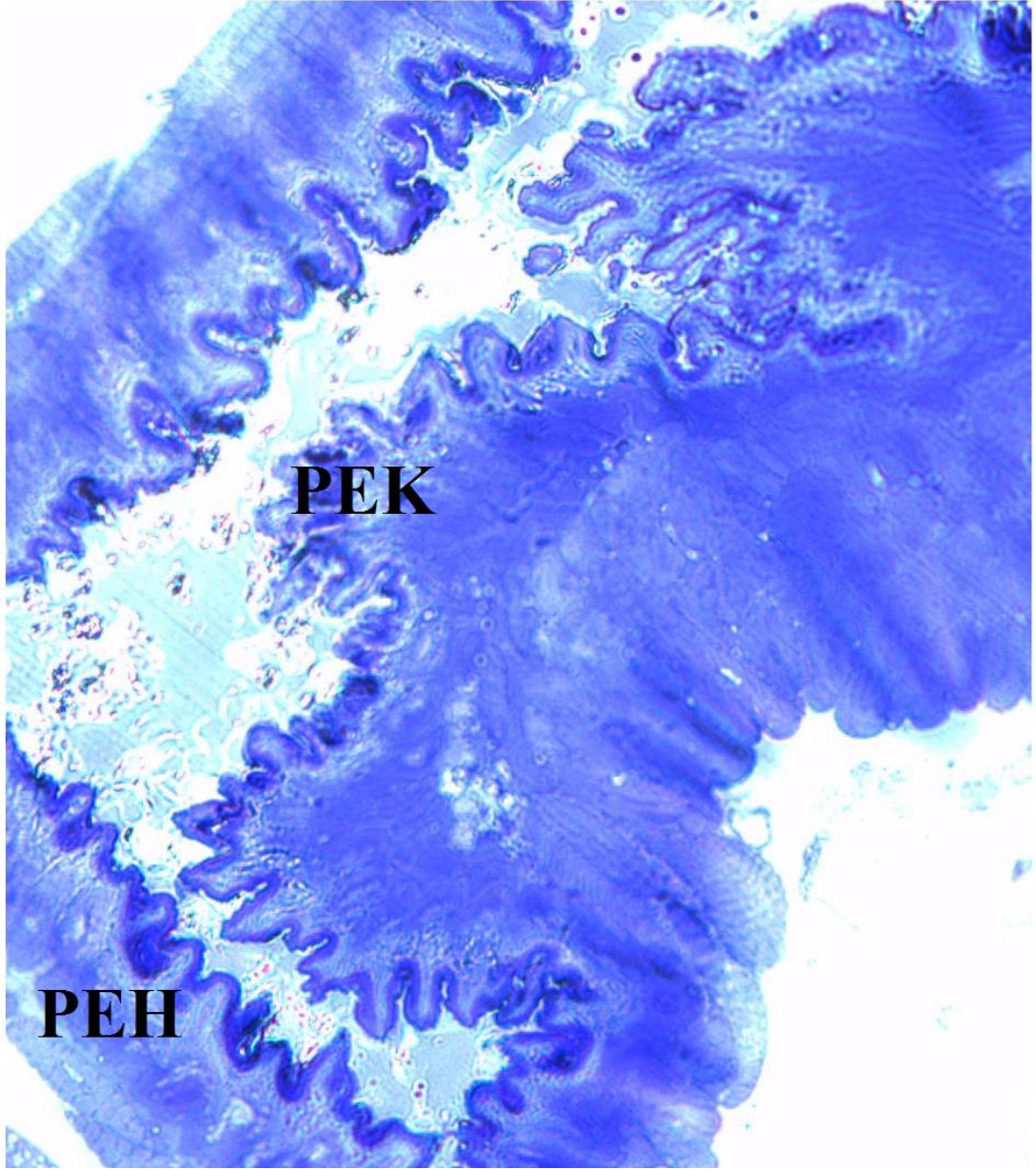


Şekil 4.10. Larva TEM görüntülerinde mikrovilluslar (MV)

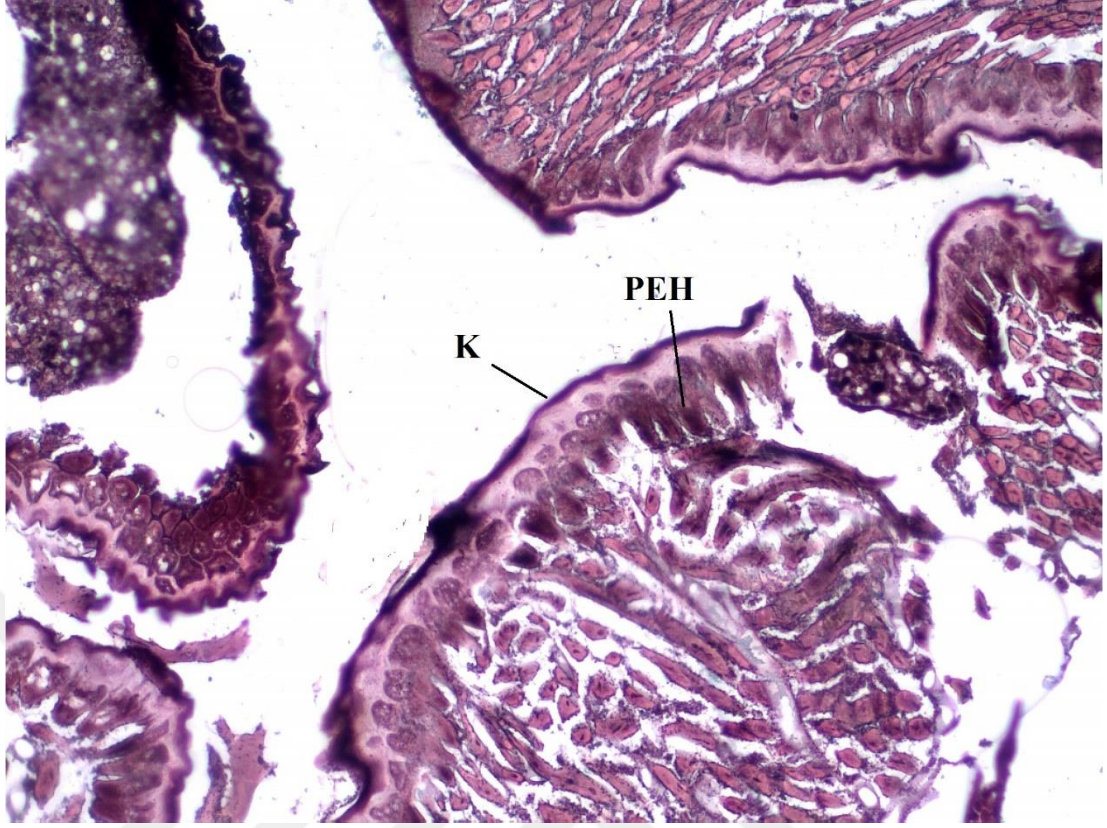


Şekil 4.11. Erginde sindirim kanalının genel görünümü. BK: Boyuna kas, EK: Enine kas, PEH: Prizmatik epitel hücresi, PEK: Prizmatik epitel hücresi katlantıları (Yarı ince kesit x200)

Ergin sindirim kanalı yarı ince kesitlerinde, prizmatik epitel kanal boyunca katlantılar oluşturarak yer almaktaydı (Şekil 4. 11 ve Şekil 4. 12). Lümen içeriği bazı bölgelerde yoğun, homojen görünümlüdür. Enine ve boyuna yer alan kas tabakası dış tarafta gözlenmektedir.



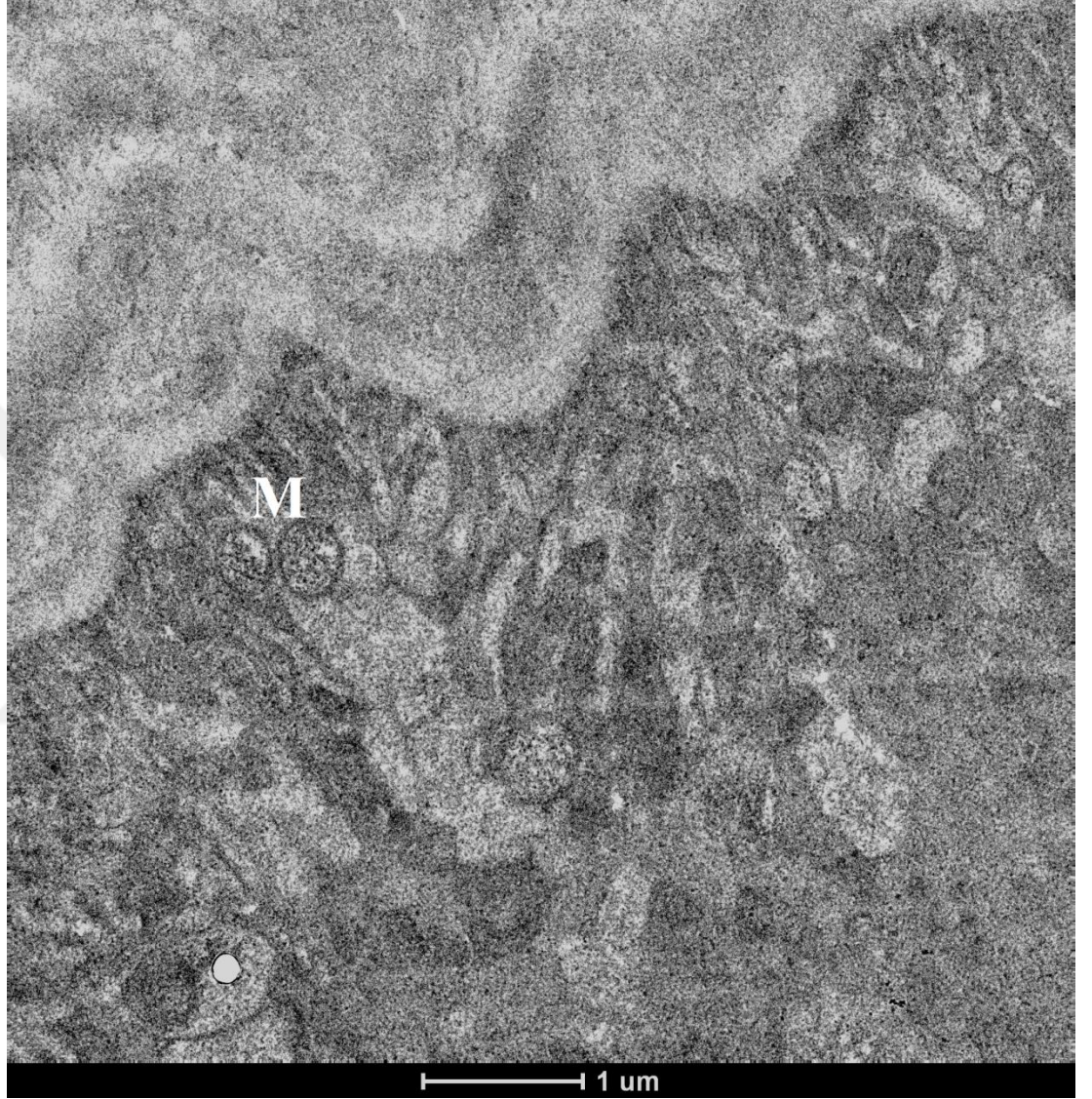
Şekil 4.12. Erginde sindirim kanalının prizmatik epitel hücreleri ve katlantılar. PEH: Prizmatik epitel hücresi, K: Epitel katlantıları (Yarı ince kesit x 200)



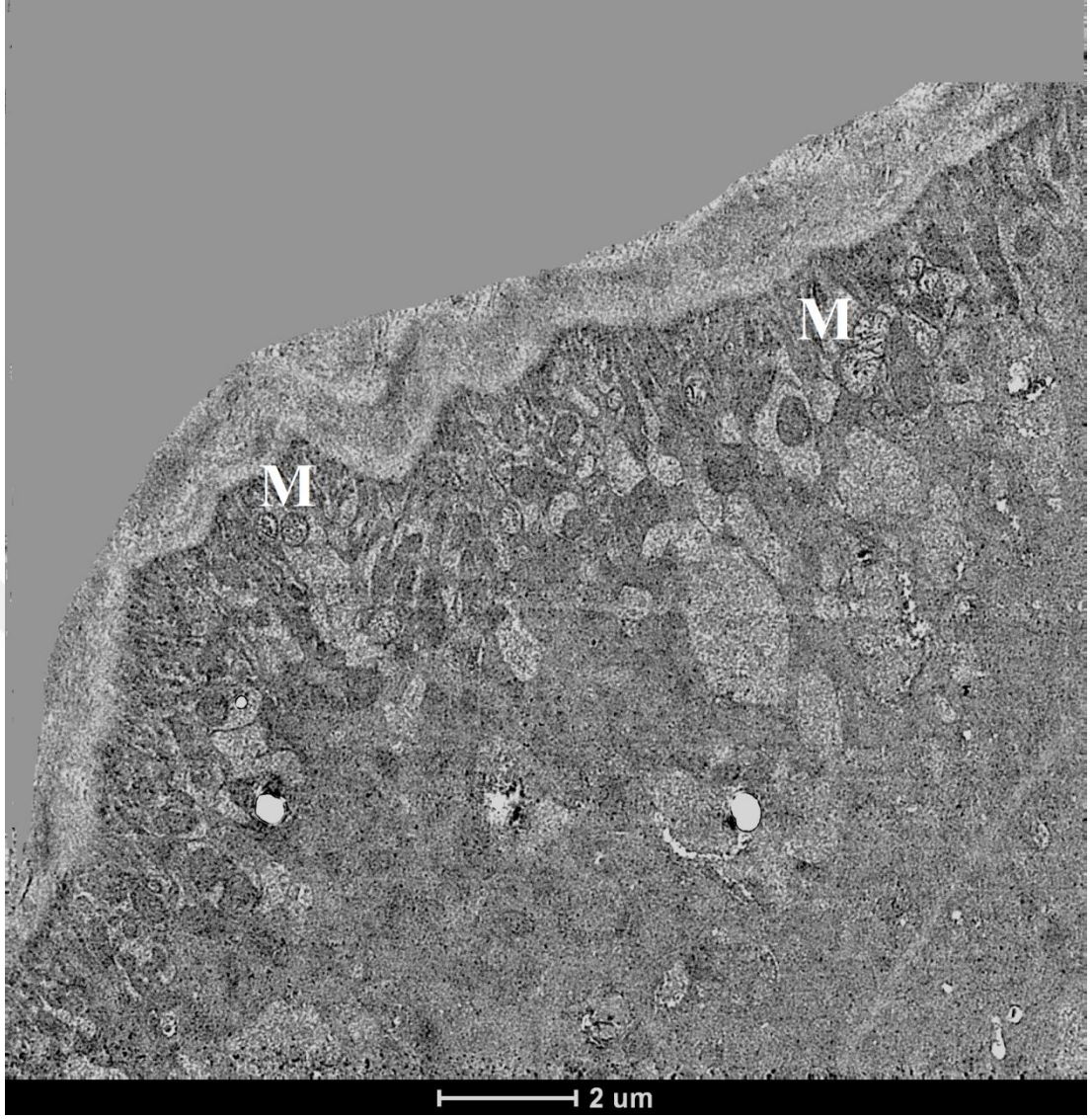
Şekil 4.13. Erginde gümüşleme boyama. K: Kutikula, PEH: Prizmatik epitel hücreleri. (GÜM x400)

Gümüşleme boyası ile boyanan ergin *Pieris*'te sindirim kanalının yoğun olarak boyandığı görülmüştür. Prizmatik epitel hücrelerinin üzerini örten kutikula belirgin görülmektedir (Şekil 4. 13).

Ergin TEM görüntülerinde mikrovilluslar yoğun ve paralel görünümde yer almaktadır. Apikal sitoplazmada küçük ve bol miktarda mitokondriler bulunmaktadır (Şekil 4. 14 ve Şekil 4. 15).



Şekil 4.14. Erginde TEM görüntüsünde ortabağırsak. M: Mitokondri



Şekil 4. 15. Erginde TEM görüntüsünde mitokondri (M)

4. 2. Morfometrik Bulgular

Epitel yüksekliği, epitel hücre sayısı ve goblet hücre sayısı ile ilgili sayım ve ölçümler yapılmıştır.

4.2.1. Epitel yüksekliği ile ilgili bulgular

Larvalarda epitel yüksekliğinin 6.32-17.62 μm arasında değiştiği görüldü. Epitel yüksekliği açısından larvalarda aritmetik ortalama ise 10.11 μm olarak tespit edildi.

Erginlerde epitel yüksekliğinin 13.40-23.41 μm arasında değiştiği görüldü. Epitel yüksekliği açısından erginlerde aritmetik ortalama ise 18.20 μm olarak tespit edildi. Bu değerler Çizelge 4.1 ve Şekil 4.16’da gösterilmiştir.

Çizelge 4. 1 *Pieris brassicae* larva ve ergininde epitel yüksekliği ortalaması

		N	Ortalama	Standart. Sapma	Standart. Hata Ortalaması
Epitel Yüksekliği	Larva	125	10.11	2.88	0.25
	Ergin	125	18.07	1.85	0.16

Larva ve erginlerden alınan epitel yüksekliği aritmetik ortalamaları kullanılarak Normallik Testi yapıldı (Çizelge 4.2). Buna göre hipotezler:

h_0 : Larva ve erginlerdeki epitel yüksekliği normal dağılıma uygundur.

h_1 : Larva ve erginlerdeki epitel yüksekliği normal dağılıma uygun değildir.

Çizelge 4. 2 *Pieris brassicae* larva ve ergininde epitel yüksekliği Normallik Testi sonuçları

Normallik Testi

<i>Pieris brassicae</i>		Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		İstatistik	Serbestlik Derecesi	Önemlilik (p)	İstatistik	Serbestlik Derecesi	Önemlilik (p)
Epitel Yüksekliği	Larva	0.32	5	0.09	0.82	5	0.12
	Ergin	0.29	5	0.17	0.89	5	0.36

Shapiro-Wilk testinde $p > 0,05$ olduğundan h_0 kabul edildi. Sonuç olarak, larva ve ergindeki epitel yüksekliğinin normal dağılıma uygun olduğu görüldü.

Epitel yüksekliği bakımından ergin ve larva arasında varyans analizi yapmak için Levene's Varyans Eşitliği Testi uygulandı. Buna göre kurulan hipotezler:

h_0 : Larva ve ergin arasındaki varyanslar eşittir.

h_1 : Larva ve ergin arasındaki varyanslar eşit değildir.

Çizelge 4. 3 *Pieris brassicae* larva ve ergininde epitel yüksekliği t - testi sonuçları

Epitel Yüksekliği.	Levene'in Varyans Eşitliği Testi		Ortalamaların Eşitliği için t-testi				
	F	Önemlilik. (p)	t	Serbestlik Derecesi	Önemlilik (p)	Ortalama Farkı	Standart Hata Farkı
Varyanslar eşit	2.933	0.125	-6.801	8	0.000	-8.086370	1.188967
Varyanslar eşit değil			-6.801	4.367	0.002	-8.086370	1.188967

Levene's Varyans Eşitliği Testi'nde p değeri $0.125 > 0.05$ olduğundan h_0 kabul edilmiştir. Sonuç olarak larva ve ergin arasındaki varyansların eşit olduğu görüldü.

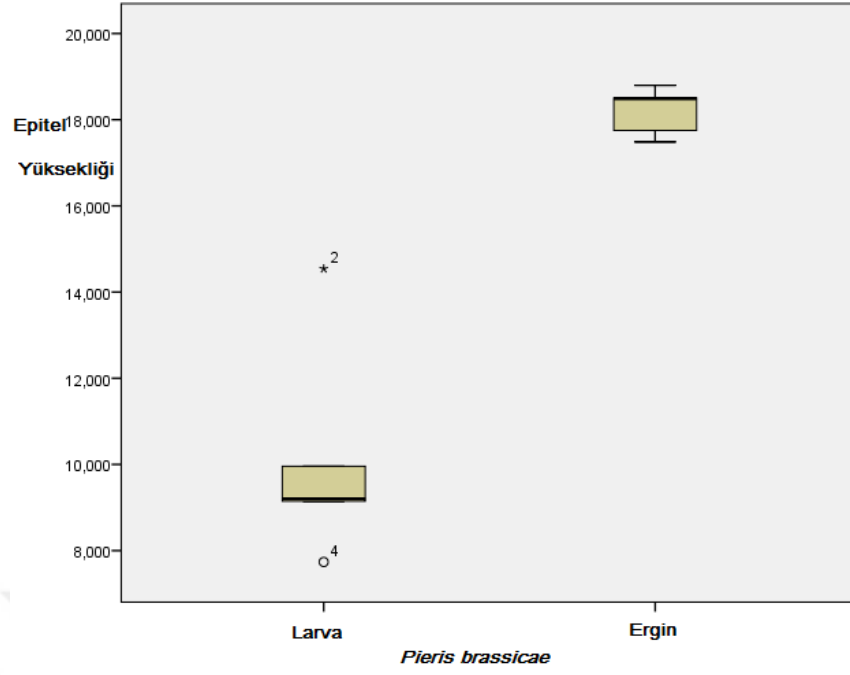
Ergin ve larva arasında epitel yüksekliği açısından anlamlı farklılık olup olmadığını belirlemek için t-Testi uygulandı (Çizelge 4.3).

t Testi'ne göre;

h_0 : Larva ve ergin epitel yüksekliği ortalamaları arasında fark önemli değildir.

h_1 : Larva ve ergin epitel yüksekliği ortalamalar arasında fark önemlidir.

%95 güven düzeyinde yapılan F testi sonucuna göre epitel yüksekliği için anlamlılık değeri 0.00 ve 0.002 < 0.05 bulunmuştur. Epitel yüksekliği için $p < 0.05$ olduğundan h_1 hipotezi kabul edilmiştir. Larva ve erginde epitel yüksekliği bakımından ortalamalar arasında anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4. 16. *Pieris brassicae* larva ve ergin epitel yüksekliği ölçüm değerleri grafiği

Çizelge 4. 4. Epitel yüksekliği ANOVA testi sonuçları

Epitel Yüksekliği	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önemlilik (p)
Gruplar Arasında	163.473	1	163.473	46.256	0.000
Gruplar İçerisinde	28.273	8	3.534		
Toplam	191.746	9			

ANOVA tablosu (Çizelge 4.4) incelendiğinde, p değeri $0.000 < 0.05$ olduğu için tek yönlü varyans analizi için olan h_0 hipotezi reddedilmiştir.

%95 güvenle, larva ve ergin ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir.

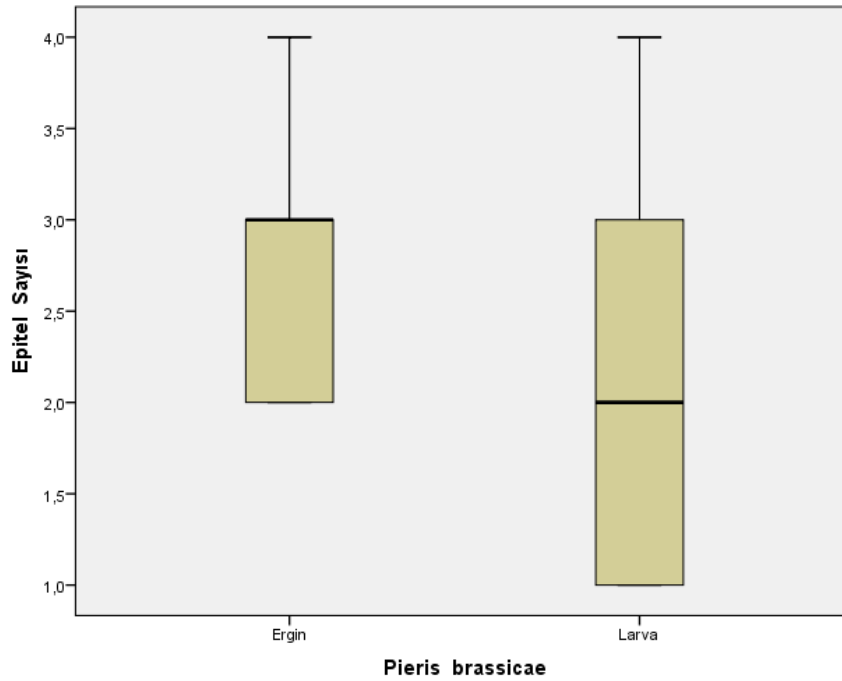
4.2.2. Epitel hücresi sayısı ile ilgili bulgular

Larvalarda epitel hücresi sayısının 3-6 arasında değiştiği görüldü. Epitel hücresi sayısı açısından larvalarda aritmetik ortalama ise 4.28 olarak tespit edildi.

Çizelge 4. 5. Larva ve ergin epitel hücre sayısı ortalamaları

<i>Pieris brassicae</i>		Ortalama	Standart. Sapma	Standart Hata Ortalaması
Epitel Sayısı	Larva	4.28	0.909	0.182
	Ergin	4.88	0.781	0.156

Erginlerde epitel hücresi sayısının 4-6 arasında değiştiği görüldü. Epitel hücresi sayısı açısından erginlerde aritmetik ortalama ise 4.88'di (Çizelge 4.5, ve Şekil 4.17).



Şekil 4. 17. Larva ve ergin epitel hücre sayısı ölçüm değerleri grafiği

Çizelge 4. 6. Larva ve ergin epitel hücre sayısı ortalamalarının çarpıklık ve basıklık katsayıları

<i>Pieris brassicae</i>			İstatistik	Standart Hata
Epitel Sayısı	Ergin	Skewness (Çarpıklık)	0.22	0.464
		Kurtosis (Basıklık)	-1.28	0.902
	Larva	Skewness (Çarpıklık)	0.194	0.464
		Kurtosis (Basıklık)	-1.049	0.902

Larva ve erginlerden alınan epitel hücresi sayısının aritmetik ortalamaları kullanılarak Normallik Testi yapıldı. Çizelge 4.7’deki değerlere göre hipotezler:

h_0 : Larva ve ergindeki epitel hücresi sayısı normal dağılıma uygundur.

h_1 : Larva ve ergindeki epitel hücresi sayısı normal dağılıma uygun değildir.

Çizelge 4. 7. Larva ve ergin epitel hücre sayısı Normallik Testi verileri

Normallik Testi							
<i>Pieris brassicae</i>		Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
		İstatistik	Serbestlik Derecesi	Önemlilik (p).	İstatistik	Serbestlik Derecesi	Önemlilik (p)
Epitel Sayısı	Ergin	0.23	25	0.001	0.80	25	0.000
	Larva	0.20	25	0.009	0.85	25	0.002

Shapiro-Wilk testi ($p > .05$) ve Çarpıklık (Skewness)-Basıklık (Kurtosis) katsayıları (+1,5 ile -1,5) dikkate alınarak (Çizelge 4.6) larva ve erginlerdeki epitel hücresi sayısı normal dağılım gösterdiği görülmektedir (Tabachnick & Fidell, 2013; Büyüköztürk, 2002).

Epitel hücresi sayısı bakımından ergin ve larva arasında varyans analizi yapmak için Levene’s Varyans Eşitliği Testi uygulandı. Çizelge 4.8’deki verilere göre kurulan hipotezler:

h_0 : Larva ve ergin arasındaki varyanslar eşittir.

h_1 : Larva ve ergin arasındaki varyanslar eşit değildir.

Çizelge 4. 8. Larva ve ergin epitel hücre sayısı arasındaki farklılık

t- Testi							
Epitel Sayısı	Levene'in Varyans Eşitliği Testi		Ortalamaların Eşitliği İçin t-Testi				
	F	Önemlilik (p)	t	Serbestlik Derecesi	Önemlilik (p)	Ortalama Fark	Standart Hata Farkı
Varyanslar Eşit	0.666	0.418	-	48	0.002	-0.8	0.24
Varyanslar Eşit Değil			3.337				

Levene's Varyans Eşitliği Testi'nde p değeri $0,418 > 0,05$ olduğundan h_0 kabul edilmiştir. Sonuç olarak, larva ve ergin epitel hücre sayısı bakımından varyansların eşit olduğu görüldü.

Ergin ve larva arasında epitel hücresi sayısı bakımından anlamlı farklılık olup olmadığını belirlemek için t-Testi uygulandı.

t-Testi'ne göre;

h_0 : Ortalamalar arasında fark önemli değildir.

h_1 : Ortalamalar arasında fark önemlidir.

%95 güven düzeyinde yapılan F testi sonucuna göre epitel hücresi sayısı için anlamlılık değeri 0.002 ve $0.002 < 0.05$ bulunmuştur. Epitel hücre sayısı için $p < 0.05$ olduğundan h_1 hipotezi kabul edilir. Sonuç olarak, larva ve erginde epitel hücre sayısı bakımından ortalamalar arasında anlamlı farklılık vardır.

Çizelge 4. 9. Larva ve ergin epitel hücre sayısı ANOVA Testi sonuçları

ANOVA

Epitel Sayısı

	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önemlilik (p)
Gruplar Arasında	8.000	1	8.000	11.137	0.002
Gruplar İçerisinde	34.480	48	0.718		
Toplam	42,480	49			

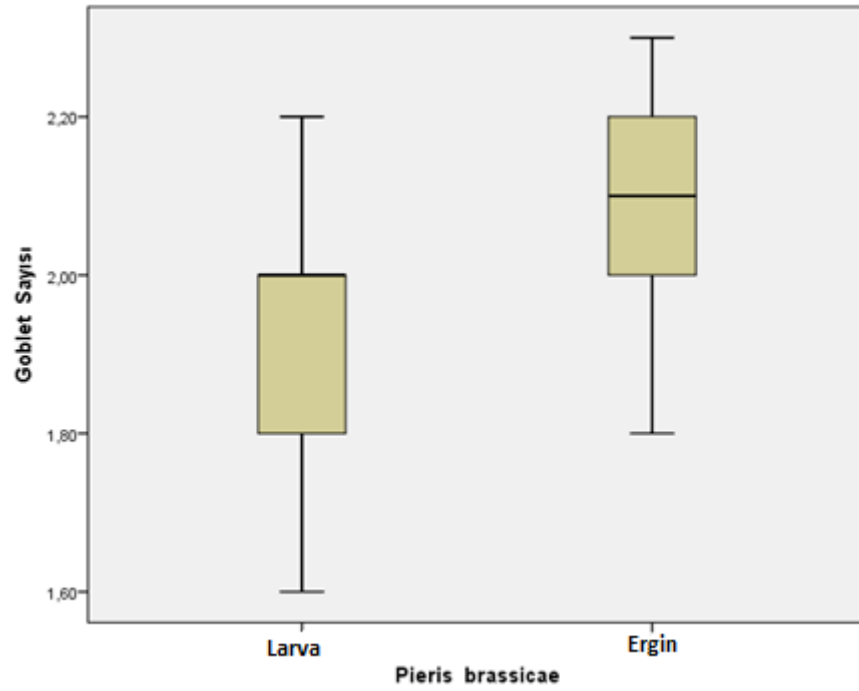
Çizelge 4.9’da verilen ANOVA tablosu incelendiğinde, p değeri $0.002 < 0.05$ olduğu için tek yönlü varyans analizi için olan h_0 hipotezi reddedilmiştir.

%95 güvenle, larva ve ergin epitel hücre sayısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir.

4.2.3. Goblet hücresi sayısı ile ilgili bulgular

Larvalarda goblet hücresi sayısının 1-3 arasında değiştiği görüldü. Goblet hücresi sayısı açısından larvalarda aritmetik ortalama ise 1.92 olarak tespit edildi.

Erginlerde goblet hücresi sayısının 1-2 arasında değiştiği görüldü. Goblet hücresi sayısı açısından erginlerde aritmetik ortalama ise 2.08 olarak tespit edildi (Şekil 4.18).



Şekil 4. 18. Larva ve ergin goblet hücre sayısı ölçüm değerleri grafiği

Larva ve ergin örneklerden alınan goblet hücresi sayısının aritmetik ortalamaları kullanılarak Normallik Testi yapıldı. Çizelge 4.10'daki verilere göre hipotezler:

h_0 : Larva ve ergindeki epitel hücresi sayısı normal dağılıma uygundur.

h_1 : Larva ve ergindeki epitel hücresi sayısı normal dağılıma uygun değildir.

Çizelge 4.10. *Pieris brassicae* larva ve ergin goblet hücresi sayısı Normallik testi sonuçları

Normallik Testi							
		Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		İstatistik	Serbestlik Derecesi	Önemlilik (p)	İstatistik	Serbestlik Derecesi	Önemlilik (p)
<i>Pieris_brassicae</i>							
Goblet Sayısı	Larva	0.237	5	0.200*	0.961	5	0.814
	Ergin	0.141	5	0.200*	0.979	5	0.928

Shapiro-Wilk testinde $p > 0.05$ olduğundan h_0 kabul edildi. Sonuç olarak, larva ve ergindeki goblet hücresi sayısının normal dağılıma uygun olduğu görüldü.

Goblet hücresi sayısı bakımından ergin ve larva arasında varyans analizi yapmak için Levene's Varyans Eşitliği Testi uygulandı (Çizelge 4.11). Buna göre kurulan hipotezler:

h_0 : Larva ve ergin arasındaki varyanslar eşittir.

h_1 : Larva ve ergin arasındaki varyanslar eşit değildir.

Çizelge 4.11. *Pieris brassicae* larva ve ergin goblet hücresi sayısı t- Testi sonuçları

t- Testi							
Goblet Sayısı	Levene'in Varyans Eşitliği Testi		Ortalama Eşitliği için t-Testi				
	F	Önemlilik (p)	t	Serbestlik Derecesi	Önemlilik (p)	Ortalama Fark	Standart Hata farkı
Varyanslar eşit	0.210	0.659	-1.199	8	0.265	-0.16000	0.13342
Varyanslar eşit değil			-1.199	7.779	0.266	-0.16000	0.13342

Levene's Varyans Eşitliği Testi'nde p değeri $0,659 > 0,05$ olduğundan h_0 kabul edilmiştir. Sonuç olarak, larva ve ergin goblet hücre sayısı bakımından varyansların eşit olduğu görüldü.

Ergin ve larva arasında goblet hücresi sayısı bakımından anlamlı farklılık olup olmadığını belirlemek için t-Testi uygulandı.

t Testi'ne göre;

h_0 :Ergin ve larva goblet hücresi sayısı ortalamaları arasında fark önemli değildir.

h_1 : Ergin ve larva goblet hücresi sayısı ortalamaları arasında fark önemlidir.

%95 güven düzeyinde yapılan F testi sonucuna göre goblet hücresi sayısı için anlamlılık değeri 0.265 ve 0.266 >0.05 bulunmuştur. $P>0.05$ olduğundan h_0 hipotezi kabul edilmiştir. Sonuç olarak, larva ve erginde goblet hücresi sayısı bakımından ortalamalar arasında anlamlı farklılık vardır.

Çizelge 4. 12. *Pieris brassicae* larva ve ergin goblet hücresi sayısı ANOVA testi sonuçları

ANOVA

Goblet Sayısı

	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önemlilik(p)
Gruplar Arasında	0.064	1	0.064	1.438	0.265
Gruplar İçerisinde	0.356	8	0.045		
Toplam	0.420	9			

Çizelge 4.12'deki ANOVA tablosu incelendiğinde, p değeri $0.265>0.05$ olduğu için tek yönlü varyans analizi için olan h_0 hipotezi kabul edilmiştir.

%95 güvenle, larva ve ergin goblet hücresi ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir.

Tartışma

Lepidoptera, kelekleri ve güveleri içeren geniş bir böcek takımıdır. Dünyada büyük ölçüde tanınan ve en yaygın bilinen böcek takımlarından biridir (Anonim, 2012).

Pieridae geniş yayılıma sahip bir kelek taksonudur ve çeşitli bitki türleri ve habitatlarda dağılım göstermektedir. (Hopkins, 1895).

Pieris brassicae Cruciferae familyasına ait bitkiler üzerinde önemli derecede zarar veren bir türdür. Lepidoptera takımı içerisinde en fazla yayılış gösteren türlerden biridir (Ansari vd, 2012; Chahil & Jagdev, 2013).Geniş alanlara göç etmeleri nedeniyle tarım ürünlerinin başlıca zararlılarından biridir. *Pieris brassicae*'ye ait larvalar bitkilerin farklı kısımlarını yiyerek zarar vermektedirler. Yumurtadan çıkan larvalar konak bitkinin yapraklarıyla beslenmektedirler (Sharifloo vd, 2016). Fitofaj olan bu larvalar bitkilere büyük zarar vermektedirler. Erginler bitki öz suyu ile beslenirken tozlaşmaya da yardımcı olmaktadır ve beslendikleri bitki için zararlı olarak kabul edilmemektedirler.(Nezir, 2007).

Bu çalışmada farklı şekilde beslenen *Pieris brassicae* larva ve erginlerinin sindirim sistemleri arasındaki farkların histolojik olarak, ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde görüntülenmesi amaçlanmıştır.

Pieris brassicae'nin tipik bir Lepidoptera sindirim kanalında olduğu gibi, ön, orta ve arkabağırsaktan oluştuğu gözlemlenmiştir. Bu durum Demirsoy (1995) ve Fischer (2003)'teki bilgilerle uyusmaktadır.

Sindirimin esas olarak gerçekleştiği yer olan ortabağırsağın larvada en uzun ve hacimli bölüm olduğu ve uzun bir tüp şeklinde olduğu, sindirim kanalının tüm vücut boyunca uzanan basit bir tüp olarak gözlemlendiği belirtilmiştir (Fischer, 2003). Bizim çalışmamızda da larval sindirim kanalı diseksiyon sırasında bu şekilde gözlemlenmiştir.

Çalışmamız sırasında larvada ortabağırsağın tek sıralı prizmatik epitel ve goblet hücrelerinden oluştuğu görülmüştür. Prizmatik hücrelerin apikal kısmında salgı kesecikleri bulunmaktadır. Rejeneratif hücreler bazal bölümde belirgin çekirdekleriyle gözlemlenmiştir. Feltwell (1982) de prizmatik hücreleri ve goblet hücrelerini bizim çalışmamıza benzer şekilde tanımlamıştır. Bazal hücrelerden bahsetmiştir.

Rejeneratif hücrelerin ise küçük küremsi, bazen de uzamış halde olduğu ve bazal bölümde yerleştiği görüntülenmiştir. Merkezde büyük küresel çekirdekler ve granüler bir sitoplazma içerdikleri gözlenmiştir. Ortabağırsağı oluşturan hücrelerin etrafında boyuna ve halkasal kasların uzandığı, boyuna kasların dışta, halkasal kasların içte yer aldığı ve boyuna kas liflerinin geniş aralıklarla dizilmiş olduğu gözlenmiştir. Ortabağırsak lümeninde besinler ile epitel hücrelerini ayıran peritrofik zar belirgin olarak görülmektedir. Bu durum ve Demirsoy (1995) Fischer (2003)'teki bilgiler ile uyusmaktadır.

Lepidoptera goblet hücreleri içe doğru katlanmış haldedir ve geniş intrasellular boşluk oluştururlar. Bu durum, omurgalı epitelinde mukus salgılayan goblet hücrelerinde farklıdır. TEM ile yapılan çalışmalarda, her goblet hücresinin çevresinde fonksiyonel bir epitel hücre topluluğu ile çevrili olduğu belirtilmiştir. Rejeneratif hücrelerin epitel ve goblet hücreleri arasına dağıldığı ve çevre hücrelere farklandığı gösterilmiştir (Fischer, 2003). Bizim çalışmamızda da goblet hücreleri epitel hücrelerinin arasında gömülü olarak ince yapılar halinde gözlenmiştir. Rejeneratif bazal hücreler de aralarda görülmektedir.

Mikrovilluslar belirgin görüldüğü, apikal sitoplazmada ise bol mitokondri bulunduğu ve endoplazmik retikulumların ayırt edildiği gözlenmiştir.

Prizmatik hücrelerin apikal bölümlerinde mikrovilluslar bulunmaktadır. Bazal katlanmalar görülmektedir. Yoğun mitokondri izlenmektedir. Sitoplazmada yoğun olarak granüllü endoplazmik retikulum ve flamanlar görülmektedir (Fischer, 2003). Bizim çalışmamızda da apikal bölümde birbirine paralel yer aln mikrovilluslar ve sitoplazmada bol miktarda mitokondriler gözlenmiştir.

Pieris brassicae ergin bireylerinde de ortabağırsakta prizmatik epitel hücresi, goblet hücresi ve rejeneratif hücrelerin bulunduğu gözlenmiştir. Farklanmamış rejeneratif hücreler epitelin yenilenmesinden sorumludur. Bu durum Knaak vd (2012)'de de görülmektedir.

Ortabağırsakta, larvada olduğu gibi, dışta boyuna kaslar, içte ise halkasal kas tabakası yer aldığı gözlenmiştir. Prizmatik epitel hücrelerinin üzerini örten kutikula belirgin görülmektedir. Prizmatik hücrelerin bazofilik sitoplazmaya sahip olduğu, bazı örneklerde sitoplazmada vakuolün de bulunduğu görülmüştür. Prizmatik epitel hücrelerinin çekirdekleri oval şekilli olup, prizmatik epiteldeki katlantıların varlığı

gözlenmiştir. Rejeneratif hücrelerin prizmatik epitel hücrelerinin bazal bölgesinde yer aldığı tespit edilmiştir. Gaikwad (2011) çalışmasında prizmatik epitel ve rejeneratif hücreler için bizim bulgularımıza benzer tanımlar kullanmıştır

Pieris brassicae larva ve ergin bireylerinde sindirim kanalının diğer Lepidoptera türlerine oldukça benzer olduğu görülmüştür. Epitel hücresi yüksekliği bakımından larva ve ergin arasında anlamlı bir farklılık olduğu gözlenmiştir. Ergin bireylerde epitel yüksekliğinin larvalara göre daha fazla olması larva ve erginler arasında sindirim kanalında bir farklılık olduğunu göstermektedir. Epitel hücre sayısı bakımından larva ve ergin arasında anlamlı bir farklılık olduğu gözlenmiştir. Ergin bireylerde epitel hücre sayısının larvalar göre daha fazla olması, larva ve ergin arasında sindirim kanalında bir farklılık olduğunu göstermektedir.

Feltwell (1982)'de prepupal evrede prizmatik hücrelerin yüksekliğinde artış gözlemlendiğini, bazal hücrelerin ise aynı kaldığını belirtmiştir. Bu durum, ergin evreye doğru ilerlerken epitel hücre yüksekliğinde artışın görüldüğü şeklinde yorumlanabilir.

Demirsoy (1995) ve Fischer (2003)'in de belirttiği gibi, larvalarda sindirim kanalının uzun olması, epitel hücrelerinin daha geniş bir alana yayılmasına neden olduğu düşünülmektedir. Erginlerde sindirim kanalının boyunun larvaya göre daha kısa olması, hücrelerinin boyunun uzun fakat eninin dar olmasına neden olmakta ve birim alana düşen hücre sayısı erginde daha fazla olmaktadır. Terra vd (1990), erginlerin nektar şekerine ek olarak nişasta ve proteini sindirerek absorbe ettiğini, nektar şekeri sindiriminin başlangıçta ortabağırsak lümeninde ve en sonunda ortabağırsak hücrelerinin yüzeyinde, mikrovilluslarda gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Mikrovilluslarda gerçekleşen bu olay, epitel hücre boyunun yüksek olmasına yol açmaktadır. Bizim çalışmalarımızda da erginde epitel boyu larvalara göre daha yüksek bulunmuştur.

Erginlerde enerji ihtiyacının fazla olması, mitokondri sayısındaki fazlalığı ve görülen bol endoplazmik retikulumu açıklamaktadır. Ergin bireylerde hücre yüksekliğinin fazla olması da, yüksek enerji ihtiyacı nedeniyle gerçekleşen aktif transporta bağlanabilir.

Fischer (2003), bazı larvalarda sindirimi kolaylaştırıcı simbiyotik bakteriler (selülozu sindirebilen) olduğunu ifade etmiştir. Sindirimi kolaylaştırıcı bu durum,

epitel hücre yüksekliğinin ve birim alandaki hücre sayısının erginlere göre daha az olmasına yol açacağını düşünmekteyiz.

Goblet hücre sayısı bakımından larva ve ergin arasında anlamlı bir farklılık olduğu gözlenmemiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, *Pieris brassicae* larva ve ergin bireylerinin beslenme farklılığının sindirim kanalında farklılık oluşturup oluşturmadığı histolojik açıdan incelemiştir. Işık ve elektron mikroskobu kullanılarak yapılan çalışmamızın sonucunda, görülen beslenme tipi farklılığının sindirim kanallarında epitel hücre yüksekliği ve epitel hücre sayısında farklılığa yol açtığı görülmüştür. Bu alanda yapılacak olan yeni araştırmalarla *Pieris brassicae* sindirim kanalı histolojisi daha ayrıntılı olarak ortaya konulabilecektir.

Pieris brassicae fitofaj bir tür olması sebebiyle, özellikle larvaları tarafından bitkilerde büyük zararlar oluşturmaktadır. Sindirim kanalının histolojisinin ayrıntılı olarak bilinmesinin, zararlılarla mücadelede önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Doktora tez çalışması sonucunda elde edilen sonuçların ileride yapılacak olan diğer çalışmalara ışık tutacağına inanıyoruz.

KAYNAKLAR

- Alford DV (1995). *A Color Atlas of Ornamental Trees, Shrubs and Flowers*. John Wiley and Sons, New York Toronto, 44.
- Anonim (2011a). http://www.tarim.gov.tr/GKGM/Belgeler/Bitki%20Sağlığı%20Hizmetleri/hastalik_zararlilari_ile_mücadele_dokumanlari/lağanagiller.pdf (Erişim tarihi: 21.04.2015)
- Anonim (2011b) Las mariposas diurnas de Sierra Nevada. https://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/portal_web/web/temas_ambientales/espacios_protegidos/renpa/publicaciones_renpa/2012_03_mariposas_snevada/05_cap4c.pdf, 206-207 (Erişim tarihi: 14.03.2015).
- Anonim (2012). Elsewhere Lepidoptera Society Lepidoptera Guide. <http://www.goelsewhere.org/wp2/wpcontent/uploads/2012/10/butterzineoct.pdf>
- Anonim (2017). British Butterfly Aberrations. <http://www.britishbutterflyaberrations.co.uk/species/pieris-brassicae/aberrations> (Erişim tarihi: 11.03.2017).
- Ansari M S, Hasan F & Ahmad N (2012). Influence of various host plants on the consumption and utilization of food by *Pieris brassicae* (Linn.). *Bulletin of Entomological Research* 102:231–237.
- Ayberk H, Hakyemez A & Cebeci H (2010). Light trap surveys for moths in Sile region of Istanbul, Turkey, *African Journal of Biotechnology* Vol. 9 (29):4624-4630.
- Bancroft J D & Stevens A, (1996). *Theory and Practice of Histological Techniques* (Forth edition). Churchill Livingstone, 766, Edinburgh.
- Bhandari K, Sood P, Mehta PK, Choudhary A, Prabhakar CS (2009). Effect of botanical extracts on the biological activity of granulosis virus against *Pieris brassicae*. *Phytoparasitica* 37:317-322.
- Bolu H & Çınar M (2005). Elazığ, Diyarbakır ve Mardin İlleri Badem Ağaçlarında Zararlı Olan Lepidoptera Türleri, Doğal Düşmanları ve Önemlileri Üzerinde Gözlemler. *Harran Üniversitesi Ziraat.Fakültesi Dergisi*, 9 (2).
- Borror D C, Triplehorn C A & Johnson N F (1989). *An Introduction to the Study of Insects*, (6th Edition). Saunders College Publishing, 588-590, Philadelphia.
- Boylu, Ö A, Bahadıroğlu, C & Bozdoğan, H (2012). Başkonuş ve Tekir Yaylasında (Kahramanmaraş) Pieridae (Lepidoptera) Faunası ve Dağılımı Üzerine Araştırma. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 13(2):181-196.
- Büyüköztürk Ş (2002). Faktör Analizi: Temel Kavramlar ve Ölçek Geliştirmede Kullanımı. *Kuram ve Uygulamada Eğitim Yönetimi*, 8(4): 470-483.
- Carter D J (1984). *Pest Lepidoptera of Europe: With Special Reference to the British Isles*. Series Entomologica Vol 31: 1-3, Springer Netherlands.
- Chahil G S & Jagdev S K (2013). Biology of *Pieris brassicae* (Linn.) on Different Brassica Species in the Plains of Punjab. *Journal of Plant Protection Research* 53(1): 53-59.

- Chapman R F (2013). *The Insects: Structure and Function* (Fifth Edition), Cambridge University Press, 47-77.
- Chen, Y Lin, L Wang, C Yeh, & Hwang S (2004). Response of Two *Pieris* (Lepidoptera: Pieridae) Species to Fertilization of a Host Plant, *Zoological Studies*, 43(4): 778-786.
- Dauberschmidt K (1933). Vergleichende Morphologie des Lepidopterendarmes und seiner Anhänge. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie–Journal of Applied Entomology* 20: 204 – 267.
- Demirsoy A (1995). *Yaşamın Temel Kuralları*, Cilt: II / Kısım: II–Omurgasızlar / Böcekler: Entomoloji, Meteksan, 102-106, Ankara.
- Feltwell J, (1978). The depredations of the Large White Butterfly (*Pieris brassicae*) (Pieridae). *Journal of Research on the Lepidoptera*, 17(4):28-225.
- Feltwell J (1982). *Large White Butterfly*, Series Entomologica, v.18, Kluwer Academic Publishers Group, Netherlands.
- Ferreres F, Sousa C, Valentao P, Pereira J A, Seabra, R M & Andrade P B (2007). Tronchuda cabbage flavonoids uptake by *Pieris brassicae*. *Phytochemistry* 68: 361–367.
- Fischer, M (2003). *Handbook of Zoology*, Volume IV, Arthropoda: Insecta: 165-181, Walter De Gruyter Inc, Germany.
- Gaikwad, S M (2011). Anatomy and Histology of the Alimentary Canal of Adult *Papilio polytes polytes* L. (Lepidoptera: Papilionidae). *The Bioscan*, 6(3): 399-402.
- Gullan P J & Cranston P S (2012). *Böcekler: Entomolojinin Ana Hatları*. (Çev. Ali Gök). Nobel Akademik Yayıncılık. (Orijinal eserin yayın tarihi, 1994), 72-79, Ankara.
- Hasan F (2008). Studies on the Bionomics of *Pieris brassicae* (Linn.). M.Sc. Thesis. AMU, Aligarh, India.
- Hesselbarth G, Van Oorsschot H & Wagener S (1995). *Die Tagfalter der Türkei*. Vol 1, 2, 3. Published by Selbstverlag. Sigbert Wagener, Bocholt, pp 1067
- Hill, D S (1987). *Agricultural Insect Pests of Temperate Regions and their Control*. Cambridge University Press, 411, Great Britain.
- Hopkins, F G (1895). The Pigments of the Pieridae: A Contribution to the Study of Excretory Substances which Function in Ornament. *Royal Society Publishing*, 186: 661-682.
- Kansu İ A (1963). Lepidoptera'ların teşhisleri ile ilgili bazı preparasyon metodları, *Bitki Koruma Bülteni*, 3 (4): 262-270.
- Knaak N, Berlitz, D L & Fiuza L M (2012). Toxicology of the Bioinsecticides Used in Agricultural Food Production, *Histopathology–Reviews and Recent Advances*, (10): 177-194.
- Krenn, H W (2010). Feeding Mechanisms of Adult Lepidoptera: Structure, Function, and Evolution of the Mouthparts. *Annual Review of Entomology*, 55:307-327.

- Kristensen N P, Scoble M J & Karsholt O (2007). Lepidoptera phylogeny and systematics: the state of inventorying moth and butterfly diversity. *Zootaxa*, 1668: 699–747.
- Lafontaine J D & Troubridge J T, (1998) Moths and Butterflies of the Montane Cordillera Ecozone <http://royalbcmuseum.bc.ca/assets/Montane-Cordillera-ecozone.pdf>, Chapter 18:484-572.
- Lal M N & Ram B (2004). Cabbage butterfly, *Pieris brassicae* L. An upcoming menace for Brassicae oilseed crop in Northern India. *Cruciferae Newsletter* 25:83-86.
- Mal B, Memon N, Memon S A, Shah M A, Shah N A & Turk J K (2014). Diversity of pierid butterflies (Lepidoptera: Pieridae) in Jamshoro district, Sindh, Pakistan. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2 (5): 164-170.
- Metspalu L, Hiisaar K & Jogar K (2003). Plant Influencing the Behaviour of Large White Butterfly (*Pieris brassicae* L.), *Agronomy Research*, 1(2), 211-220.
- Nezir A (2007). Cide (Aydos) Yöresi Lepidoptera Türleri. Yüksek Lisans Tezi Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Mühendisliği Anabilim Dalı, 80, Ankara.
- Pereira D M, Valentão P, Ferreres F, Seabra R & Andrade P B (2010). *Pieris brassicae* as Laboratory of Synthesis of New Compounds with Biological Potential Interaction with *Brassica oleracea* var. *costata* and *Brassica rapa* var. *rapa*. *Utilisation and Management of Medicinal Plants*, 157-173.
- Plantevin G & Nardon P (1970). Histologie et activité sécrétoire de l'intestin moyen des larves de *Pieris brassicae* et *Galleria mellonella*. Evolution au cours de la mue larvaire et de la nymphose chez *Galleria mellonella*. *Annales de Zoologie Ecologie Animale*, 2: 25-50
- Sadozai A & Khan I A (2014). Developmental Response of *Pieris brassicae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae) on Different Cauliflower Cultivars under Laboratory Conditions. *American Journal of Plant Sciences*, 5: 2611-2616.
- Sharifloo A, Zibaee A, Sendi J J & Jahroumi K T (2016). Characterization of a Digestive α -Amylase in the Midgut of *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera: Pieridae). *Frontiers in Physiology*, 7 (96):1-14.
- Smallegange R C (2007). Flower vs. Leaf Feeding by *Pieris brassicae*: Glucosinolate-Rich Flower Tissues are Preferred and Sustain Higher Growth Rate. *Journal of Chemical Ecology* 33:1831–1844.
- Tabachnick B G & Fidell L S (2013). *Using Multivariate Statistics (6th Edition)*. Pearson, 79-83, Boston.
- Terra W R, Santos C D & Ribeiro A F (1990). Ultrastructural and biochemical basis of the digestion of nectar and other nutrients by the moth *Erinnyis ello*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 56 (3): 277-286.
- Wahlberg N, Rota J, Braby M F, Pierce N E & Wheat C W (2014). Revised systematics and higher classification of pierid butterflies (Lepidoptera: Pieridae) based on molecular data, *Royal Swedish Academy of Sciences*, 43, 6: 641–650.

- Yıldız Y & Kaygın A T (2010). Bartın’da *Sinapis arvensis* L. (Yabani Hardal) Üzerinde Zarar Yapan *Pieris brassicae* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera, Pieridae)’nin Predatör ve Parazitoidi. III. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi 20-22 Mayıs 2010 Cilt: IV Sayfa: 1327-1335
- Younas M, Naeem M, Raquib A & Masud S (2004). Population dyanimcs of *Pieris brassica* on five cultivar of cauliflower at Peshawar. Asian J. Plant Sci. 3:391-393.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Hülya Bulut

Doğum Yeri : Samsun

Doğum Tarihi : 22.03.1973

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : 19 Mayıs Lisesi (1989)

Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (1993)

Yüksek Lisans: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (Eylül 1994-Eylül 1997)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (1995-1997)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi (2001-2007)

Değişim Dersanesi (2009-2011)

Korkuteli Hacı Ethem-Şerife Kavukçu Anadolu Lisesi (2011-2014)

Ayvacık Mahmut Gökmen Anadolu İmam Hatip Lisesi (2014-)