



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü



**AVRUPA EŞEK ARISI, *VESPA CRABRO* LINNAEUS,  
1758 (HYMENOPTERA: VESPIDAE)'DA DOLAŞAN  
HEMOSİT TİPLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

Buğra HOCA

Biyoloji Anabilim Dalı

İzmir  
2021

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü

**AVRUPA EŞEK ARISI, *VESPA CRABRO* LINNAEUS,  
1758 (HYMENOPTERA: VESPIDAE)'DA DOLAŞAN  
HEMOSİT TİPLERİNİN BELİRLENMESİ**

Buğra HOCA

Danışman : Prof. Dr. Hüseyin ARIKAN

Biyoloji Anabilim Dalı  
Zoooloji Yüksek Lisans Programı

İzmir  
2021







**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ****ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI**

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Avrupa Eşek Arısı, *Vespa crabro* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Vespidae)’da Dolaşan Hemosit Tiplerinin Belirlenmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

02/08/2021

Adı-Soyadı

İmza



**ÖZET****AVRUPA EŞEK ARISI, *VESPA CRABRO* LINNAEUS, 1758  
(HYMENOPTERA: VESPIDAE)'DA DOLAŞAN HEMOSİT TİPLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

HOCA, Buğra

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hüseyin ARIKAN

Temmuz 2021, 22 sayfa

Mevcut çalışma, Avrupa Eşek Arısı *Vespa crabro* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Vespidae) erginlerinde immün sistem hücreleri (hemositler)'nin ışık mikroskobu ile belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, *Vespa crabro* erginlerinin hemolenfinde bulunan hemosit tiplerinin belirlenmesi, ölçüm ve hesaplanmasında Wright'ın boyasıyla boyanmış yayma preparatlardan yararlanılmıştır. Hemosit tipleri morfolojik olarak ışık mikroskobunda incelenip büyüklükleri ölçülmüştür. *Vespa crabro* erginlerinin hemolenfinde prohemositler, plazmatositler, granüositler ve önositoidler olmak üzere 4 hemosit tipi tespit edilmiştir. Prohemositler hemolenfte en fazla gözlemlenen ve boyutları en küçük sferik şekilli hücrelerdir. Plazmatositler polimorfik şekilli hücreler olup sitoplazmalarında belirgin vakuoller bulunur. Granüositler sitoplazmalarında azurofil granüllere sahiptir ve en büyük hemosit tipidir. Önositoidler genellikle yuvarlak olup hemolenfte en az rastlanan hemosit tipidir. Ergin örneklerde abdomenin yağ dokusu tarafından kaplandığı gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Vespa crabro*, Avrupa Eşek Arısı, Hymenoptera, İmmün sistem hücreleri, Wright boyası, Işık mikroskobu.



**ABSTRACT****DETERMINATION OF CIRCULATING HEMOCYTE TYPES BY  
LIGHT MICROSCOPY IN EUROPEAN HORNET, *Vespa crabro*  
(LINNAEUS, 1758) (HYMENOPTERA: VESPIDAE)**

HOCA, Buğra

M. Sc. in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Hüseyin ARIKAN

July 2021, 22 pages

The current study was carried out to determine immune system cells (hemocytes) of adult individuals of European Hornet *Vespa crabro* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Vespidae) using light microscope. To that end, smear preparations of hemolymph samples from adult individuals of *Vespa crabro* were stained with Wright's stain to detect, measure and calculate hemocyte types. Hemocyte types were morphologically examined under light microscope and their size were measured. In hemolymph samples from adult individuals of *V. crabro*, four hemocyte types were determined. These hemocyte types were prohemocytes, plasmacytes, granulocytes and oenocytoids. Prohemocytes are spherical cells that have the smallest size among hemocytes of *Vespa crabro* and the most common hemocyte type observed in hemolymph. Plasmacytes are polymorphic cells and have evident vacuoles in their cytoplasm. Granulocytes are the biggest hemocyte type and have azurophilic granules in their cytoplasm. Oenocytoids are generally rounded shaped and rarely found hemocyte type in hemolymph. It is observed that the abdomen of adult individuals of *Vespa crabro* is covered with fat tissue.

**Keywords:** *Vespa crabro*, Avrupa Eşek Arısı, Hymenoptera, Immune system cells, Wright's stain, Light microscopy



**ÖNSÖZ**

Avrupa eşek arısı, *Vespa crabro*, Dünyada geniş dağılışa sahip bir türdür. Literatürde bu türün hemolenf ve dolaşan hemosit tipleri konusunda çalışmalara pek rastlanmamaktadır. Mevcut çalışmada, *V. crabro* hemolenfinde dolaşan hemosit tiplerinin belirlenmesi ve büyüklüklerinin ölçülmesi ile böcek immünitesi konusunda literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.





**İÇİNDEKİLER**

KABUL ONAY SAYFASI.....	III
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	V
ÖZET.....	VII
ABSTRACT.....	IX
ÖNSÖZ.....	XI
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	XIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XVI
TABLolar DİZİNİ.....	XVIII
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE METOT.....	4
2.1. Örneklerin Temin Edilmesi.....	4
2.2. Deneysel Prosedür ve Hemositlerin Boyanması.....	4
2.3. Mikroskopik İnceleme.....	5
3. BULGULAR.....	6
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	10

## İÇİNDEKİLER (devam)

KAYNAKLAR.....	15
TEŞEKKÜR.....	21
ÖZGEÇMİŞ.....	22





## ŞEKİLLER DİZİNİ

**Şekil 2.1.** Avrupa eşek arısı, *Vespa crabro*'nun dorsal ve ventralden görünüşü.

**Şekil 2.2.** Hemolenfin lam üzerinde yayılışı.

**Şekil 3.1.** *Vespa crabro*'nun hemolenfinde tespit edilen prohemosit hücresi.

**Şekil 3.2.** *V. crabro*'nun hemolenfinde tespit edilen oval plazmatosit hücresi.

**Şekil 3.3.** *V. crabro*'nun hemolenfinde tespit edilen sferik plazmatosit hücresi.

**Şekil 3.4.** *V. crabro*'nun hemolenfinde tespit edilen granülosit hücresi.

**Şekil 3.5.** *V. crabro*'nun hemolenfinde tespit edilen önositoid hücresi.

**Şekil 3.6.** Ergin *V. crabro* örneğinde yağ dokusu tarafından kaplanmış abdomenin ventralden görünümü.

**Şekil 3.7.** *V. crabro*'da yağ dokusunun ışık mikroskop görüntüsü.



## TABLÖLAR DİZİNİ

**Tablo 1.** *V. crabro*'da ergin örneklerin hemolenfinde tespit edilen sferik hemosit tiplerinde tespit edilen ortalama hücre ve nukleus ölçüm değerleri, oval hemositlerde tespit edilen ortalama uzunluk ve genişlik değerleri ( $\mu\text{m}$  olarak) ve hemosit büyüklükleri ( $\mu\text{m}^2$  olarak) standart sapmalarıyla birlikte verilmiştir. (HB: Sferik hücrelerin büyüklüğü, NB: Sferik hücre nukleuslarının büyüklüğü, HU: Oval hücrelerin uzunluğu, HG: Oval hücrelerin genişliği, NU: Oval hücre nukleuslarının uzunluğu, NG: Oval hücre nukleuslarının genişliği).

## 1. GİRİŞ

Avrupa eşek arısı, *Vespa crabro* Eklembacaklılar (Arthropoda) Phylum'unun Zar kanatlılar (Hymenoptera) Ordo'su içinde yer alan canlılardır. Vespidae familyası içinde 15.000'den fazla tanımlanmış yaban arısı türü bulunmakta ve bu türlerin çoğu koloni oluşturmamaktadır (Arıkan ve Akçiçek, 2013). *Vespa crabro* bu familyaya dahil sosyal türlerden biridir. Koloni oluşturan türler ölü bitkileri, çamur ve tükrük salgılarını kullanarak inşa ettikleri yuvada yaşarlar (Spradbery,1973; Edwards 1980; Ishay et al., 1986; Matsuura, 1991; Bağrıaçık, 2011). Kraliçe arının büyüklüğü 2.5-3.5cm arasında, işçi arılar ortalama 2 cm, erkek arılar ise ortalama 2,4 cm'dir (Tolon, 1999). Kuzey Yarım Küre'de Avrupa, Kuzey Afrika ve Asya'nın ılıman bölgelerinde bulunurlar. Bu tür Avrupa'da bulunan yaban arılarının en büyüğüdür. Kraliçe arı, işçi arılar tarafından nektar, et suyu ve meyve ile beslenirken, larvalar aynı şekilde işçi arılar tarafından çiğnenmiş et ve böceklerle beslenirler (Tolon, 1999).

*Vespa crabro* sosyal bir tür olup yuva içerisinde diğer bireylerle etkileşimde bulunması aynı zamanda daha fazla patojen ile etkileşimde bulunması anlamına gelmektedir. Canlılar patojenlere karşı fiziksel bariyerler geliştirmiştir fakat patojenler bu bariyerleri zaman zaman aşım canlının vücudunda enfeksiyon oluşturabilirler (Kavanagh and Reeves, 2004; Amaral et al, 2010).

Doğada hayvanlar sürekli olarak patojenlerle karşı karşıyadır. Hayvanların önemli fizyolojik özelliklerinden birisi de patojenleri içeren virüs, bakteri, fungus ve protozoonlar gibi mikroorganizmalara karşı korunmaları ve bağışıklık mekanizması oluşturmalarıdır (Tunaz, 2004). Bu mekanizmalardan ilki kütikuladır. Kütikula böceklerde ilk savunma hattı olup memelilerin derisi ile aynı göreve sahiptir (Clarkson et al, 1998; Kavanagh and Reeves, 2004). Omurgasız ve omurgalı hayvanların bağışıklık mekanizması arasında çok önemli farklılıklar bulunmaktadır. Omurgalı hayvanlar patojenlere karşı iki önemli savunma mekanizmasına sahiptir; bunlar doğuştan ve kazanılmış ya da adaptif immün sistemlerdir (Lavine and Strand, 2002). Doğuştan immün sistem canlının genetik kodunda olan ve patojenin tanınım yok edilmesini sağlayan genler ile kontrol edilir, kazanılmış immün sistem ise somatik gen düzenlemesi ile patojeni tespit edecek antijen spesifik reseptörler üretip canlının immünolojik bellek geliştirmesine imkân

sağlamaktadır (Fearon, 1997; Lavine and Strand, 2002). Patojenlere karşı omurgalı hayvanlar özel antikorlar oluştururken, omurgasız hayvanlar antikorlar oluşturmazlar (Tunaz, 2004; Kavanagh and Reeves, 2004). Böcekler hastalık oluşturan mikroorganizmalara karşı hücrel ve humoral olarak bilinen iki temel aktif bağışıklık sistemine sahiptirler (Gupta, 1986; Tunaz, 2004). Hemolenf yüksek organizasyonlu hayvanlardaki kan ve lenfin her ikisine karşılık gelmektedir (Reiber and McGaw, 2009). Hemolenfin fonksiyonu canlının vücudundaki besin, atık madde, sinyal molekülleri ile aynı zamanda hücrel ve humoral bağışıklık sistemi elemanlarını taşımaktır (Kavanagh and Reeves, 2004). Hemolenf doku ve organlarla sürekli temas halindedir. Hemolenf proteinleri yağ hücrelerinde sentezlenip hemolenfe salınırlar (Tojo et al., 1980; Hyrs and Simek, 2005). Ayrıca antimikrobiyal peptidleri (AMP) sentezleyen ve hemolenfe salan, humoral tepkiden sorumlu merkezi organdır (Hoffmann and Reichhart, 2002). Yağ doku immün sistem için bir efektör olmasının yanında, nötral lipidlerin depolandığı temel dokudur. Humoral bağışıklık ile ilgili olarak antimikrobiyal peptidler, hemolenf koagülasyonu ve melanizasyonu gibi savunma mekanizmaları vardır (Lavine and Strand, 2002). Hemolenfin hücrel elemanları memelilerin fagositlerine benzer görevler üstlenmiştir. Hücrel elemanların büyük bir bölümü hemolenf içerisinde serbest dolaşır ancak bir kısmı ise yağ dokusu, trake, sindirim kanalı gibi organlarda bulunur (Ratcliffe, 1985). Böceklerde hücrel savunma mekanizması kendi içinde üçe ayrılmaktadır. Bunlar fagositik özellik (fagositoz), nodülasyon ve kapsül oluşturmaktır (Gupta, 1986; 1991). Hücrel bağışıklık elemanları hemositlerdir. Tanımlanmış en yaygın böcek hemositleri; prohemosit, granülosit, plazmatosit, sferülosit ve önositoidlerdir (Lavine and Strand, 2002). Bu hemosit tipleri *Vespa crabro*'nun da içinde bulunduğu Hymenoptera (Zar kanatlılar) dahil birçok ordoda tespit edilmiştir. Patojen veya hücrel artıkların hücre tarafından bir membran içerisine alınıp sindirilmesine fagositoz denir. Fagositoz, ökaryotik tek hücreli organizmalarda temel hücrel faaliyetlerden biri, çok hücreli organizmalarda ise zararlı objelerin ortadan kaldırılmasını sağlayan hücrel bir aktivitedir (Stuart and Ezekowitz, 2005; Beckage, 2008). Patojenin hemositin yüzey proteinleri tarafından tanınması, etrafını sarması ve devamında patojenin yok edilmesi şeklinde gerçekleşir. Böcek hemositlerinin protozoon, bakteri, mantar gibi mikrobiyal patojenleri ve ölü hücre kalıntılarını fagosit etme özellikleri vardır (Lanot et al.,

2001; Lavine and Strand, 2002; Beckage, 2008). Fagositik özelliğe sahip böcek hemositleri genellikle plazmatositlerdir, ancak farklı böcek türlerinde değişiklik gösterebilmektedir (Gupta, 1979). Hemositlerin bir grup oluşturarak bakterileri hapsedip oluşturdukları yapıya nodülasyon denir. Yapı daha fazla hemositin daha fazla bakteriyi hapsedmesi şeklinde büyüyüp sonunda plazmatosit tabakalarının profenoloksidaz aktivasyonu ile melanizasyona uğrar (Tunaz, 2004). Kapsül oluşması, böcek hemositlerinin kendilerinden daha büyük yapıda olan protozoon veya nematod grupları içinde yer alan parazit canlılar ve yabancı maddelere karşı oluşturdukları bir hücresel bağışıklık mekanizmasıdır (Tsakas and Marmaras, 2010). Hemositler hedeflerine bağlanıp çok katmanlı bir kapsül oluşturur ve etrafını sararlar, daha sonra bu kapsülün içerisinde serbest radikaller ROS veya RNS ile ya da organizmayı oksijensiz bırakarak öldürürler (Nappi *et al.*, 1995; Nappi and Ottaviani, 2000; Tsakas and Marmaras, 2010). Hymenoptera takımında hemolenfte dolaşan hücreler mesoderm orjinlidir (Gupta, 1979).

Bu tez çalışmasında, Avrupa eşek arısı, *Vespa crabro*'nun erginlerinden elde edilen hemolenfte dolaşan hemosit tiplerinin ışık mikroskobu ile belirlenerek morfolojilerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1 Örneklerin Temin Edilmesi

Çalışmada kullanılan Avrupa eşek arısı, *Vespa crabro* ergin örnekleri Ege Üniversitesi Kampüsü içerisinde 06.10.2020 tarihinde temin edilmiştir. Laboratuvar ortamına alınan ergin örneklerin öncelikle fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 2.1).

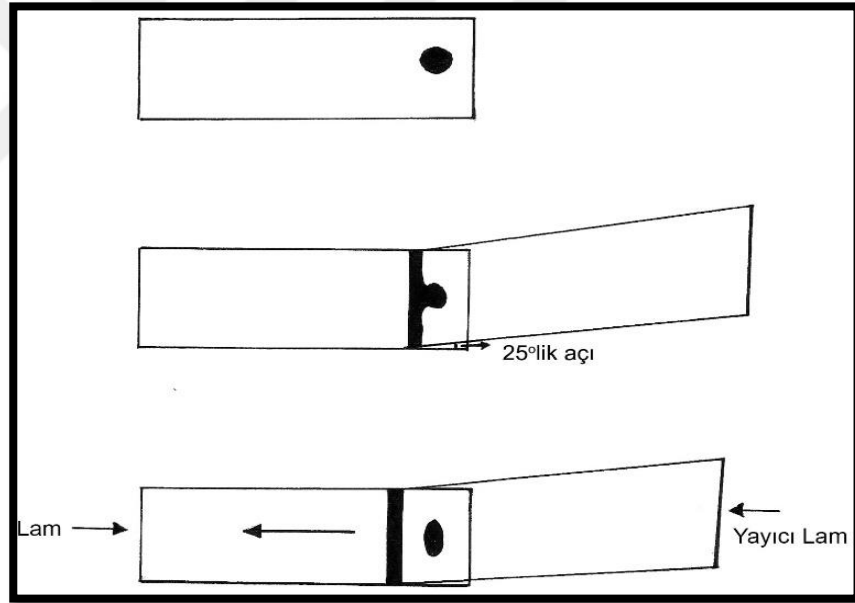


Şekil 2.1. Avrupa eşek arısı, *Vespa crabro*'nun dorsal ve ventralden görünüşü.

### 2.2. Deneysel Prosedür ve Hemositlerin Boyanması

Çalışmada toplam 8 *V. crabro* ergin örnek kullanılmış ve her bir örnekten alınan hemolenften 1 yayma preparat hazırlanmıştır. Hemositlerin ölçüm ve incelenmesi için gerekli olan hemolenf, ergin örneklerin abdomen bölgesinden küçük bir makas yardımıyla disekte edilmesi ve hemolenf sıvısının heparinli hematokrit kılcal tüplere alınması ile elde edilmiştir. Hemositlerin ölçüm ve hesaplanmasında Wright'ın boyasıyla boyanmış yayma preparatlardan yararlanılmıştır.

**Yayma preparatın hazırlanması:** Önceden temizlenmiş lamın bir kenarından 1 cm kadar içeriye bir damla hemolenf sıvısından damlatılır. Yayıcı olarak ikinci bir temiz lam alınır ve hemolenf damlası ile 25° açı yapacak şekilde ayarlanıp aynı hızda yayıcı lam itilerek yayma gerçekleştirilmiş ve kurumaya bırakılmıştır (Şekil 2.2). Boyama işlemi boyama kabı yöntemine göre yapılmıştır. Buna göre, iyi yayılmış preparatlar seçilerek boyama kabının rafına yerleştirilir. Wright boyasından lam üzerine yayılacak kadar (10-12 damla) damlatılarak 1 dakika kadar beklenir ve üzerine buffer solüsyonundan 10-12 damla damlatılarak 10 dakika beklenir. Sonra boya-buffer karışımı dökülerek saf suda çalkalanıp kurumaya bırakılır. Daha sonra kapatıcı (entellan) damlatılıp lamel kapatılarak daimî preparat haline getirilir (Seiverd, 1972). Her bir örnekten bir yayma preparat yapılmıştır.



Şekil 2.2. Hemolenfin lam üzerinde yayılışı.

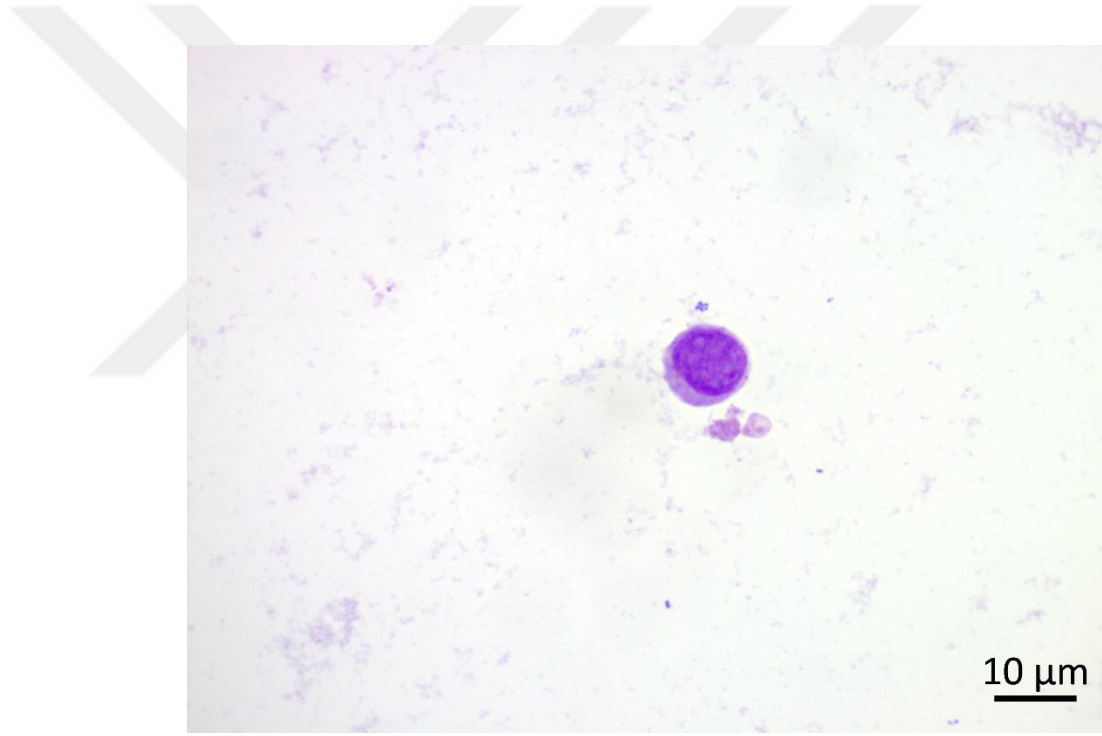
### 2.3. Mikroskopik İnceleme

Hemositlerin morfolojik özellikleri ışık mikroskopunda incelenmiştir. Daha sonra, iyi hazırlanmış preparatlarda MOB-1-15x mikrometrik oküler yardımı ile hemositlerin ölçümleri alınmış ve Axio Scope.A1 mikroskobu altında Zen Lite programı ile fotoğrafları çekilmiştir.

### 3. BULGULAR

*V. crabro*'da ergin örneklerin hemolenfinde 4 hemosit tipi tespit edilmiştir: prohemositler, plazmatositler, granülositler, ve önositoidler.

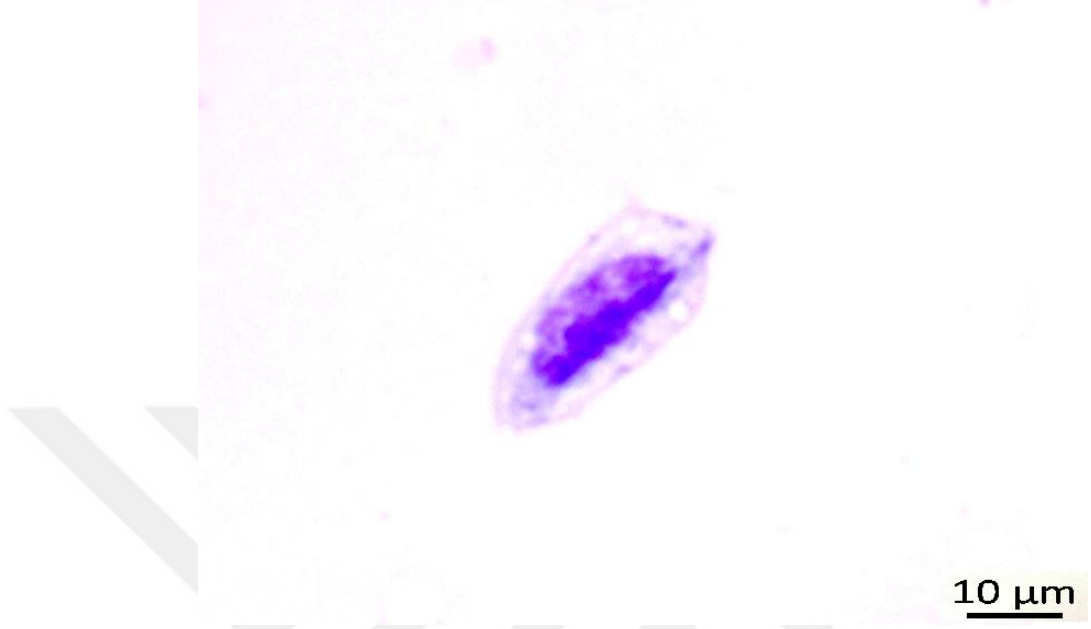
Prohemositler hemolenfte tespit edilen en küçük hemosit tipidir. Wright'ın boyasıyla bazofilik boyanan sitoplazma dar bir sahaya itilmiş durumdadır. Merkezi konumlu kromatik olan ve koyu morumsu boyanan nukleus hemen hemen tüm hücreyi doldurmuş durumdadır (Şekil 3.1). Prohemositler hemolenfte en fazla görülen sferik hücreler olup ortalama büyüklükleri  $14.923 \mu\text{m}^2$  olarak hesaplanmıştır (Tablo 1).



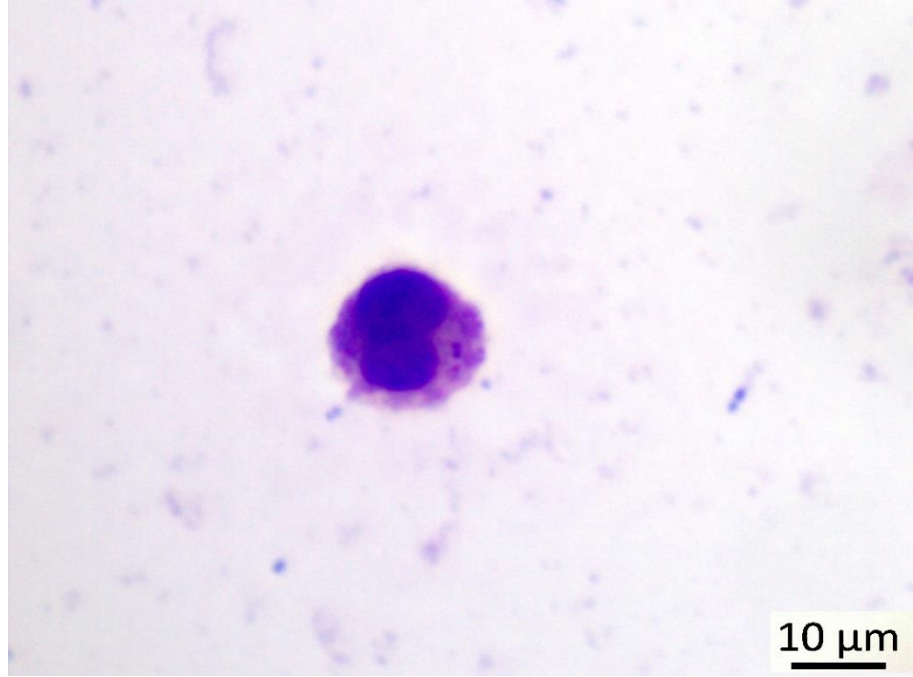
Şekil 3.1. *Vespa crabro*'nun hemolenfinde tespit edilen prohemosit hücresi.

Plazmatositler sferik, oval, iğ şeklinde ya da düzensiz şekilde olabilen oldukça polimorfik hücrelerdir. Dolayısıyla, büyüklükleri değişebilmektedir. Wright'ın boyasıyla sitoplazma bazofilik olup içinde birkaç vakuol gözlenmiştir, Merkezi konumlu sferik veya oval şekilli nukleus prohemositlerdeki gibi koyu morumsu boyanmıştır (Şekil 3.2 ve Şekil 3.3). Oval hücrelerde ise ortalama

uzunluk 12.542  $\mu\text{m}$ , ortalama genişlik ise 6.581  $\mu\text{m}$  olarak ölçülmüş; sferik plazmatositlerde ortalama büyüklük 63.979  $\mu\text{m}^2$  olarak hesaplanmıştır, (Tablo 1).

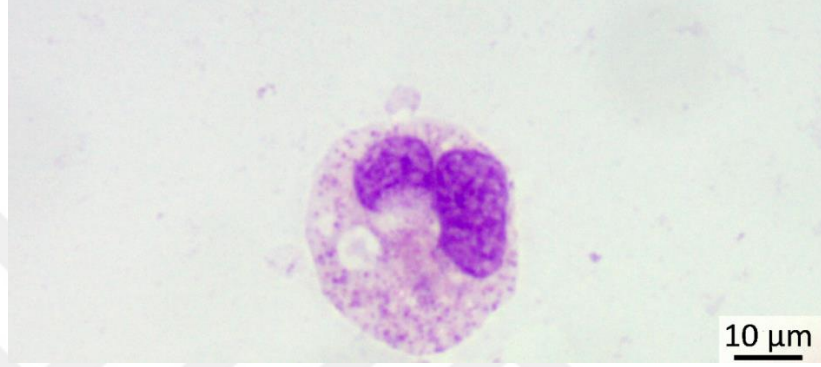


Şekil 3.2. *V. crabro*'nun hemolenfinde tespit edilen oval plazmatosit hücresi.



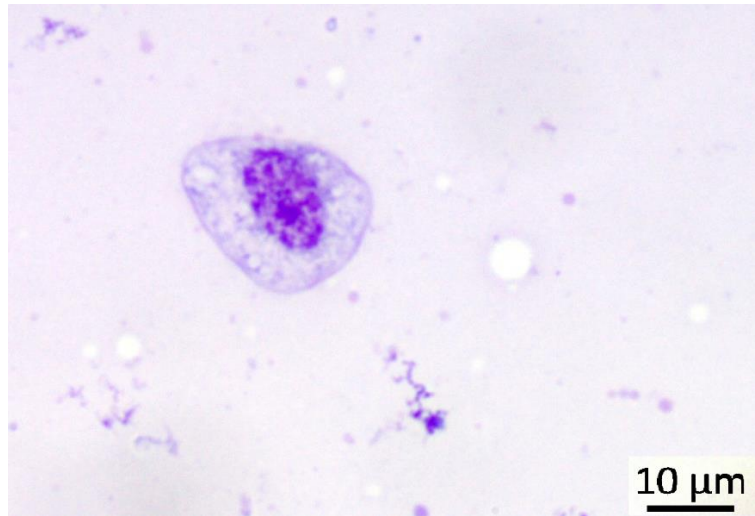
Şekil 3.3. *V. crabro*'nun hemolenfinde tespit edilen sferik plazmatosit hücresi.

Granülositler sitoplazmasında içerdği enzimlerce zengin azurofil granüller ve vakuoller nedeniyle kolayca teşhis edilebilen hücrelerdir. Şekil ve büyüklükleri değişebilmektedir. Merkez konumlu koyu morumsu boyanmış nukleus asidofilik olup hücre şekline uygun olarak oval şekillidir (Şekil 3.4.). Hücrenin ortalama büyüklüğü  $210.757\mu\text{m}^2$ , nukleusun ortalama büyüklüğü ise  $32.175\mu\text{m}^2$  olarak hesaplanmıştır (Tablo 1).



Şekil 3.4. *V. crabro*'nun hemolenfinde tespit edilen granülosit hücresi.

Önositoidler genellikle sferik şekilli olup nukleus da hücre şekline uygun olarak sferiktir ve merkezi olarak yerleşmiştir (Şekil 3.5). Önositoidlerde ortalama hücre büyüklüğü  $105.194\mu\text{m}^2$ , ortalama nukleus büyüklüğü ise  $37.371\mu\text{m}^2$  olarak hesaplanmıştır (Tablo 1).

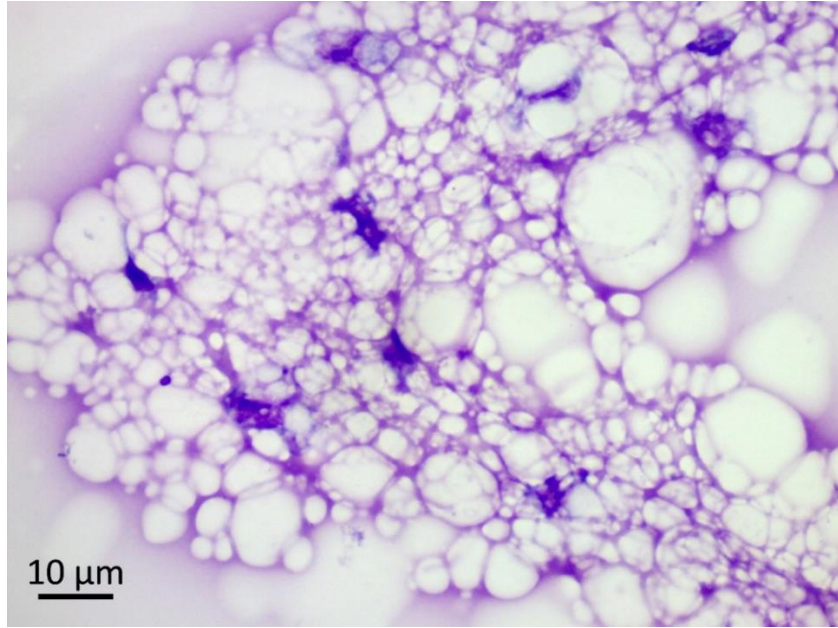


Şekil 3.5. *V. crabro*'nun hemolenfinde tespit edilen önositoid hücresi.

Ergin *V. crabro* örneklerinde abdomen yağ dokusu tarafından kaplanmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Ergin *V. crabro* örneğinde yağ dokusu tarafından kaplanmış abdomenin ventralden görünümü.



Şekil 3.7. *V. crabro*'da yağ dokusunun ışık mikroskop görüntüsü.

**Tablo 1.** *V. crabro*'da ergin örneklerin hemolenfinde tespit edilen sferik hemosit tiplerinde tespit edilen ortalama hücre ve nukleus ölçüm değerleri, oval hemositlerde tespit edilen ortalama uzunluk ve genişlik değerleri ( $\mu\text{m}$  olarak) ve hemosit büyüklükleri ( $\mu\text{m}^2$  olarak) standart sapmalarıyla birlikte verilmiştir. (HB: Sferik hücrelerin büyüklüğü, NB: Sferik hücre nukleuslarının büyüklüğü, HU: Oval hücrelerin uzunluğu, HG: Oval hücrelerin genişliği, NU: Oval hücre nukleuslarının uzunluğu, NG: Oval hücre nukleuslarının genişliği).

Hemosit tipleri	HB ( $\mu\text{m}^2$ )	HG ( $\mu\text{m}$ )	HU ( $\mu\text{m}$ )	NB ( $\mu\text{m}^2$ )	NG ( $\mu\text{m}$ )	NU ( $\mu\text{m}$ )
Prohemosit	14.923± 3.61	-	-	9.987± 2.92	-	-
Plazmatosit (sferik)	63.979± 12.1	-	-	24.417± 4.01	-	-
Plazmatosit (oval)	64.284± 9.97	6.581± 1.09	12.542± 1.73	22.094± 4.27	4.144± 0.53	6.880± 1.11
Granülosit	210.757± 50.25	-	-	32.175± 10.22	-	-
Önositoit	105.194± 11.01	-	-	37.371± 9.77	-	-

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Böcekler diğer omurgasızlarda olduğu kazanılmış immüniteden yoksun olup sadece doğuştan immüniteye sahiptirler. Böceklerde doğuştan immünite kapsamında özellikle Diptera, Lepidoptera ve Hymenoptera ordolarından bazı türlerde hücresel elemanlar ya da hemositler üzerinde hücresel savunma ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır (Lavine and Strand 2002; Ling et al. 2003; Ribeiro & Brehélin, 2006; Hartenstein 2006; Strand, 2008; Manfredini et al. 2008; Amaral et al. 2010; Negri et al., 2014; Yelkovan et al. 2021).

Son çalışmalarda, farklı araştırmacılar tarafından kullanılan omurgasızların ve özellikle arthropodların hemolenfinde dolaşan hücrelerin terminolojisi konusunda dört esas tipinden (prohemositler, hyalin hemositler ya da plazmatositler, granüler hemositler ya da granülositler ve önositoitler) bahsetmişlerdir (Hartenstein, 2006; Amaral et al., 2010).

Böceklerde, immün savunma opsonizasyon, fagositoz, melanizasyon, kapsülasyon ve pıhtılaşmayı kapsayan adaptiv tepkilerle karakterize edilmektedir. Her bir takson patojenlere karşı kendini savunmada hücrel ve moleküler mekanizmaları düzenleyen bir strateji izlemektedir (Rolffand and Siva-Jothy, 2003; Schmid-Hempel, 2005). Hemositler böceklerin immün sisteminde savunma mekanizmasının önemli bir bileşenini oluşturmaktadır.

Bu çalışmada, literatür bilgisine uygun olarak ergin evredeki örneklerden elde edilen hemolenfde prohemosit, plazmatosit (sferik veya oval), granülosit ve önositoit olmak üzere 4 hemosit tipi tespit edilmiştir.

Prohemositler kök hücre işlevi görenek diğere hücelere farklılaşma özelliğine sahiptirler (Lavine and Strand, 2002; Chapman, 2013). Wu et al. (2016) tarafından bir Lepidopter türü olan petek güvesi, *Galleria mellonella* larvasında yapılan bir çalışmada, hemolenfde prohemositlerin gözlenmediği belirtilmiştir. Mevcut çalışmada *Vespa crabro* erginlerinin hemolenfinde ise, prohemositler yayma preparatlarda en sık rastlanan hemositler olarak dikkat çekmiştir. Prohemositler en küçük olan hücelere olup ortalama büyüklükleri  $14.923 \mu\text{m}^2$ , nukleus büyüklükleri ise  $9.987 \mu\text{m}^2$  olarak hesaplanmıştır.

Plazmatositler prohemositlerden farklılaşan ve gelişme esnasında apoptotik hücelere ortadan kaldırılması, patojenlerin sindirilmesi gibi fagositik özelliğe sahip hücelere (Evans et al., 2003; Hartenstein, 2006; Beckage, 2008). Plazmatositler sferik veya oval şekilli gayri muntazam hücelere olup sitoplazmalarındaki sindirim vakuollere en belirgin özellikleridir. Sferik plazmatositler ortalama  $63.979 \mu\text{m}^2$ , oval hücelere ise  $64.284 \mu\text{m}^2$  büyüklüğe sahiptirler. Oval hücelere ortalama uzunlukları  $12.542 \mu\text{m}$ , genişlikleri ise  $6.581 \mu\text{m}$  olarak ölçülmüştür. Sferik plazmatositlerde ortalama nukleus büyüklüğü  $24.417 \mu\text{m}^2$ ; oval hücelere ortalama nukleus uzunluğu  $6.880 \mu\text{m}$ , genişliği  $4.144 \mu\text{m}$  olarak ölçülmüş ve büyüklüğü  $22.094 \mu\text{m}^2$  olarak hesaplanmıştır.

Granülositlerin yara iyileşmesi, pıhtılaşma, fagositoz ve patojenlerin kapsüllenmesi şeklinde fonksiyonel özellikleri bilinmektedir (Nardi et al., 2001; Hartenstein, 2006; Amaral et al., 2010). Bazı araştırmacılar metamorfozda doku modellemede granülositlerin rolü olduğunu onaylamışlardır (Nardi and Miklasz, 1989; Kurata et al., 1991, 1992; Rheuben, 1992; Murray et al., 1995; Kiger et al., 2001; Nardi et al., 2001). Granülositler yayma preparatlarda sitoplazmalarındaki

koyu boyanmış granüller ve en büyük hücreler olarak dikkat çekmiştir. Granülositlerde ortalama hücre büyüklüğü  $210.757 \mu\text{m}^2$ , ortalama nükleus büyüklüğü ise  $32.175 \mu\text{m}^2$  olarak hesaplanmıştır.

Birçok çalışmada, önositoidler arthropodların dolaşımında farklı bir hemosit tipi olarak düşünülmüştür (Hartenstein, 2006; Amaral et al, 2010). Literatürde belirtildiği gibi (Amaral et al., 2010; Ravaiano et al., 2018), önositoidler *V. crabro* hemolenfinde diğer hücre tiplerinden daha az rastlanan hücrelerdir. Bu hücrelerin görevleri tam olarak bilinmemektedir ancak fenoloksidaz aktivitesi varlığı nedeni ile önositoidlerin melanizasyon metabolizmasında rol oynadığı düşünülmektedir (Brehelin and Zachery, 1986; Öztürk et al., 2018). Çalışmamızda önositoidlerin ortalama hücre büyüklüğü  $105,194 \mu\text{m}^2$ , ortalama nükleus büyüklüğü ise  $37,371 \mu\text{m}^2$  olarak hesaplanmıştır.

Adipohemositler konusunda araştırmacılar arasında farklı görüşler bulunmaktadır. Gupta (1979) adipohemositleri farklı bir hemosit tipi olarak kabul etmiştir. Bazı fonksiyonel ve karşılaştırmalı yeni çalışmalarda bu hücrelerin bir hemosit tipi olmadığı ve yağ dokunun kontaminasyonu nedeniyle hemolenfde görüldüğü belirtilmiştir (Hillyer and Strand, 2014).

Orthoptera takımından *Decticus verrucivorus*, *Eupholidoptera smyrnensis*, *Glyphotmethis* spp üzerinde yapılan çalışmada hemosit tipleri prohemosit, plazmatosit (sferik-oval), granülosit, sferülosit ve önositoit olarak belirlenmiştir (Öztürk et al., 2018). *D. verrucivorus* türünde ortalama hücre büyüklükleri sırası ile  $141.90 \mu\text{m}^2$ ,  $229.75 \mu\text{m}^2$ ,  $242.44 \mu\text{m}^2$ ,  $222.02 \mu\text{m}^2$ ,  $210.46 \mu\text{m}^2$ ,  $440.29 \mu\text{m}^2$ , *E. smyrnensis* türünde  $83.70 \mu\text{m}^2$ ,  $139.49 \mu\text{m}^2$ ,  $130.44 \mu\text{m}^2$ ,  $137.39 \mu\text{m}^2$ ,  $152.42 \mu\text{m}^2$ ,  $316.40 \mu\text{m}^2$ , *Glyphotmethis* spp türünde ise  $118.43 \mu\text{m}^2$ ,  $253.69 \mu\text{m}^2$ ,  $239.34 \mu\text{m}^2$ ,  $213.94 \mu\text{m}^2$ ,  $178.47 \mu\text{m}^2$ ,  $427.79 \mu\text{m}^2$  olarak hesaplanmıştır (Öztürk et al., 2018). Bahsedilen üç türün hemosit tipleri boyut olarak karşılaştırıldığında, en büyük hemosit tipinin önositoidler, en küçük hemositlerin prohemositler olduğu belirtilmiştir (Öztürk et al., 2018).

Hymenoptera takımından *Melipona scutellaris* türünün larvalarının hemolenfinde yapılan çalışmada 4 hemosit tipi tespit edilmiştir. Bu hemosit tipleri; prohemosit, plazmatosit, granülosit, önositoitlerdir (Amaral et al., 2010). *M. Scutellaris*'in hemosit tiplerinin ortalama hücre çapları; prohemositler  $8.69 \mu\text{m}$ , plazmatositler  $11.81 \mu\text{m}$ , granülositler  $19.12 \mu\text{m}$ , önositoidler  $20.25 \mu\text{m}$  olarak

belirlenmiştir (Amaral et al., 2010). Dolayısıyla, *M. scutellaris*'de dolaşan hemosit tipleri içinde en küçük prohemositler en büyük ise önositoidler olduğu görülmektedir.

Yelkovan et al. (2021) Hymenoptera takımından *Apis mellifera* hemolenfi üzerine yaptıkları çalışmada ergin bireylerde tespit ettikleri hemosit tipleri bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir. *A. mellifera* çalışmasında ergin işçi arıların hemolenfinde prohemositler  $36.66 \mu\text{m}^2$ , plazmatositler (sferik-oval)  $70.45 - 50.47 \mu\text{m}^2$ , granülositler  $232.88 \mu\text{m}^2$ , adipohemositler  $294.28 \mu\text{m}^2$ , önositoidler ise  $262.57 \mu\text{m}^2$  ortalama büyüklüğe sahiptirler. *A. mellifera*'da en büyük hemosit tipi adipohemositler, en küçüğü ise prohemositlerdir.

Literatürdeki diğer bir çalışmada Wu et al. (2016) Lepidoptera takımından *Galleria mellonella* larvası üzerinde yaptığı çalışmada hemosit tiplerini plazmatosit, granülosit, sferülosit ve önositoid olarak belirlemiştir. Hemosit tiplerinin çapları sırası ile  $8-10 \mu\text{m}$ ,  $8-12 \mu\text{m}$ ,  $10-15 \mu\text{m}$ ,  $12-20 \mu\text{m}$  arasındadır (Wu et al., 2016). *G. mellonella*'da yapılan ölçümlere bakıldığında en büyük hücreler önositoid, en küçük hücreler ise plazmatositlerdir.

Sonuç olarak, mevcut çalışmada Avrupa eşek arısı, *Vespa crabro* 'nun erginlerinin hemolenfinde prohemosit, plazmatosit, granülosit ve önositoit olmak üzere 4 hemosit tipinin dolaştığı belirlenmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda hücrelerin ortalama büyüklükleri; prohemositlerde  $14,923 \mu\text{m}^2$ , plazmatosit (oval)  $64,284 \mu\text{m}^2$ , plazmatosit (sferik)  $63,979 \mu\text{m}^2$ , granülositlerde  $210.757 \mu\text{m}^2$ , önositoidlerde  $105,194 \mu\text{m}^2$  olarak hesaplanmıştır. *V. crabro*'da hemositler büyüklükleri açısından karşılaştırıldığında; en büyük hücrelerin granülositler, en küçük hücrelerin ise prohemositler olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada *V. crabro*'nun erginlerinin hemolenfinde dolaşan hemosit tipleri konusunda elde edilen sonuçların arı immünitesi ile ilgili yapılacak çalışmalara katkı yapacağını düşünüyoruz.

**KAYNAKLAR**

**Amaral, I.M.R., Neto, J.F.M., Pereira, G.B., Franco, M.B., Beletti, M.E., Kerr, W.E., Bonetti, A.M., Vieira, C.U.,** 2010, Circulating hemocytes from larvae of *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): Cell types and their role in phagocytosis, *Micron*, 41:123–129.

**Arıkan, H. ve Akçiçek, E.,** 2013, Zehirli ve Tehlikeli Hayvanlar Zooloji ve Tıp, Seta Matbaa Ofset ve Dijital Baskı Sistemleri, İzmir.

**Bağrıaçık, N.,** 2011, Determination of some structural features of the nest paper of *Vespa orientalis* linneaus, 1771 and *Vespa crabro* linneaus, 1758 (Hymenoptera: Vespinae) in Turkey, *Archives of Biological Sciences*, 63(2):449-455.

**Beckage, N.E.,** 2008, *Insect Immunology*. Academic Press, United Kingdom.

**Brehelin, M. and Zachary, D.,** 1986, Insect hemocytes: a new classification to rule out the controversy. In: Brehelin M, editor. *Immunity in Invertebrates*. Berlin, Germany: Springer-Verlag, pp. 36-48.

**Chapman, R.F.,** 2013, *The Insects: Structure and Function*. 5th ed. Cambridge, UK. Cambridge University Press.

**Clarkson, J., Screen, S., Bailey, A., Cobb, B. and Charnley, K.,** 1998, Fungal pathogenesis in insects. In: *Molecular Variability of Fungal Pathogens* (Bridge, P., Couteaudier, Y. and Clarkson, J., Eds.), pp. 83–93. CAB International (Chapter 6).

**Edwards, R.,** 1980, *Social Wasps. Their Biology and Control*. Rentokil, East Grinstead, UK, 397 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Evans, C.J., Hartenstein, V., Banerjee, U.,** 2003, Thicker than blood: conserved mechanisms in *Drosophila* and vertebrate hematopoiesis. *Developmental Cell* 5, 673–690.

**Fearon, D.T.,** 1997, Seeking wisdom in innate immunity. *Nature* 388, 323–324.

**Gupta, A.P.,** 1979, *Insect Hemocytes: Development, forms, functions, and techniques*, Cambridge University Press, New York.

**Gupta, A.P.,** 1986, *Hemocytic and Humoral Immunity in Arthropods*, Wiley, New York.

**Gupta, A.P.,** 1991, *Immunology of insects and other arthropods*, CRC Press, Inc. Boca Raton, FL.

**Hartenstein, V.,** 2006, Blood cells and blood cell development in the Animal Kingdom. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 22: 677–712.

**Hillyer, J. and Strand, M.R.,** 2014, Mosquito hemocyte-mediated immune responses, *Current Opinion in Insect Science*, 3:14-21

**Hoffmann, J.A. and Reichhart, J.M.,** 2002, *Drosophila* innate immunity: an evolutionary perspective, *Nature immunology*, 3(2): 121-126.

**Hyrsl, P. and Šimek, V.,** 2005, An analysis of hemolymph protein profiles during the final instar, prepupa and pupa of the silkworm *Bombyx mori* (Lepidoptera, Bombycidae), *Biologia-Section Zoology*, 60 (2): 207-213.

**Ishay, J.S., Rosenzweig, E., Pechhaker, H.,** 1986, Comb building by worker groups of *Vespa crabro* L., *Vespa orientalis* L. and *Paravespula germanica* F. (Hymenoptera: Vespinae). *Monit. Zool. Ital.* 20, 31-51.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Kavanagh, K. and Reeves, E.P.**, 2004, Exploiting the potential of insects for in vivo pathogenicity testing of microbial pathogens, *FEMS Microbiology Reviews*, 28:101–112.

**Kiger, J.A., Natzle, J.E., Green, M.M.**, 2001, Hemocytes are essential for wing maturation in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98, 10190–10197.

**Kurata, S., Kobayashi, H., Natori, S.**, 1991, Participation of a 200-kDa hemocyte membrane protein in the dissociation of the fat body at the metamorphosis of *Sarcophaga*. *Developmental Biology* 146, 179–185.

**Kurata, S., Saito, H., Natori, S.**, 1992. The 29 kDa hemocyte proteinase dissociates fat body at metamorphosis of *Sarcophaga*. *Developmental Biology* 153, 115–121.

**Lanot, R., Zachary, D., Holder, F., Meister, M.**, 2001, Postembryonic hematopoiesis in *Drosophila*. *Dev. Biol.* 230, 243–257.

**Lavine, M.D. and Strand M.R.**, 2002, Insect hemocytes and their role in immunity, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32:1295–1309.

**Ling, E., Shirai K., Kanekatsu R., Kiguchi K.**, 2003, Classification of larval circulating hemocytes of the silkworm, *Bombyx mori*, by acridine orange and propidium iodide staining, *Histochem Cell Biol*, 120:505–511.

**Manfredini, F., Dallai, R., Ottaviani, E.**, 2008, Circulating hemocytes from larvae of the paper wasp *Polistes dominulus* (Hymenoptera, Vespidae), *Tissue and Cell*, 40:103–112.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Matsuura, M.**, 1991, Vespa and Provespa. In: Ross K.G. and Matthews R.W. (eds.): The social biology of wasps. Cornell Univ. Press, Ithaca, pp. 232-262.

**Murray, M.A., Fessler, L.I., Palka, J.**, 1995, Changing distributions of extracellular matrix components during early wing morphogenesis in *Drosophila*. *Developmental Biology* 168, 150–165

**Nappi, A.J., Vass, E., Frey, F., Carton, Y.**, 1995, Superoxide anion generation in *Drosophila* during melanotic encapsulation of parasites. *Eur. J. Cell Biol.* 68: 450-456.

**Nappi, A.J. and Ottaviani, E.**, 2000, Cytotoxicity and cytotoxic molecules in invertebrates. *BioEssays* 22: 469-480.

**Nardi, J.B. and Miklasz, S.D.**, 1989. Hemocytes contribute to both the formation and breakdown of the basal lamina in developing wings of *Manduca sexta*. *Tissue and Cell* 21, 559–567.

**Nardi, F., Carapelli, A., Fanciulli, P.P., Dallai, R., Frati, F.**, 2001. The complete mitochondrial DNA sequence of the basal hexapod *Tetrodontophora bielanensis*: evidence for heteroplasmy and tRNA translocations. *Molecular Biology and Evolution* 18, 1293–1304.

**Negri, P., Maggi, M., Szawarski, N., Lamattina, L., & Eugaras, M.**, 2014, *Apis mellifera* hemocytes in vitro: What type of cells are they? Functional analysis before and after pupal metamorphosis. *Journal of Apicultural Research*, 53(5), 576–589.

**Öztürk, G., Çakıcı, Ö., Arıkan H.**, 2018, Morphological characterization of hemocyte types in some species belonging to Tettigoniidae and Pamphagidae (Insecta: Orthoptera), *Turkish Journal of Zoology*, 42: 340-345.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Ratcliffe, N.A.**, 1985, Invertebrate Immunity – A Primer for The Non-Specialist, Immunology Letters, 10:253-270.
- Reiber, C.L. and McGaw, I.J.**, 2009, A Review of the “Open” and “Closed” Circulatory Systems: New Terminology for Complex Invertebrate Circulatory Systems in Light of Current Findings. International Journal of Zoology (5) DOI:10.1155/2009/301284.
- Rheuben, M.B.**, 1992. Degenerative changes in the muscle fibers of *Manduca sexta* during metamorphosis. Journal of Experimental Biology 167, 91–117.
- Ribeiro, C. and Brehelin, M.**, 2006, Insect haemocytes: What type of cell is that ?, Journal of Insect Physiology 52 417–429 pp.
- Rolffand, J. and Siva-Jothy, M.T.**, 2003. Invertebrate Ecological Immunology. Science 301, 472–475.
- Schmid-Hempel, P.**, 2005. Evolutionary ecology of insect immune defenses. Annual Reviews Entomology 50, 529–551
- Seiverd, C.E.**, 1972, Hematology for medical technologists. 4th edition. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Spradbery, J.V.**, 1973, Wasps. An Account of the Biology and Natural History of Social and Solitary Wasps. Sidgwick and Jackson Press, 408 pp.
- Strand, M.R.**, 2008, The insect cellular immune response, Insect Science, 15:1-14.
- Stuart, L.M. and Ezekowitz, R.A.B.**, 2005, Phagocytosis: Elegant complexity. Immunity 22, 539–550.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Tojo, S., Nagata, M., Kobayashi, M.** 1980, Storage proteins in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry*, 10 (3): 289-303.

**Tolon, B.**, 1999, Yaban Arılarında Sosyal Yaşam, *Hayvansal Üretim*, 39-40: 120-127.

**Tsakas, S. and Marmaras, V.J.**, 2010, Insect immunity and its signalling: an overview, *Invertebrate Survival Journal*, 7: 228-238.

**Tunaz, H.**, 2004, Böceklerde Bağışıklık Mekanizması, *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 7:78-82.

**Wu, G., Liu, Y., Ding, Y., Yia Y.**, 2016, Ultrastructural and functional characterization of circulating hemocytes from *Galleria mellonella* larva: Cell types and their role in the innate immunity, *Tissue and Cell*, 48:297–304.

**Yelkovan, S., Arıkan, H., Çakıcı, Ö.**, 2021, Caste and age-related changes in circulatory hemocytes of honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), *Journal of Apicultural Research*, 60(2):1-10.

**TEŞEKKÜR**

Tez konumun belirlenmesinde, çalışmamın yürütülmesinde ve yol gösterilmesinde bana destek olan değerli tez danışman Hocam Prof. Dr. Hüseyin ARIKAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Tezimin örneklerinin temin edilmesi ve hemolenf preparatlarının hazırlanmasında benden yardımlarını esirgemeyen ve yanımda olan değerli Hocalarım Prof. Dr. Hüseyin ARIKAN ve Doç. Dr. Özlem ÇAKICI'ya teşekkürü bir borç bilirim. Mikroskopik fotoğraf çekimlerim sırasında bana yardımcı olan doktora öğrencisi Dirim ŞENDOĞAN'a ve laboratuvarında benden yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Zalihe KÜRTÜRAL'a çok teşekkür ederim. Desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen arkadaşlarım Oğulcan AVCU ve Yalçın Eyüpoğlu'na teşekkür ederim. Son olarak eğitim hayatım boyunca bana maddi ve manevi her konuda destek olan aileme, annem Halide HOCA, babam Mehmet HOCA ve kardeşim Buğçe HOCA'ya en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

02/08/2021

İmzası

## ÖZGEÇMİŞ

İlkokulu Güzelyurt Barış İlkokulu ve Güzelyurt Özgürlük İlkokulu'nda, orta okulu Şehit Turgut Ortaokulu'nda ve lise eğitimimi Güzelyurt Kurtulus Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2013 yılında Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde üniversite eğitimime başladım. Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı'ndan ise 2019 yılında mezun oldum. 2019 yılının Eylül ayında Ege Üniversitesi Biyoloji/Zooloji alanında yüksek lisansına başladım.

Buğra HOCA  
Yüksek Lisans Öğrencisi