

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

*Agrotis segetum* (Denn. ve Schiff.) (Lepidoptera: Noctuidae)  
**Orta Bağırsak Hücrelerine Lektinlerin Bağlanması**

**Naznoosh SHOMALİ MOGHADDAM**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA**

**2008**

**Her hakkı saklıdır**

Naznoosh SHOMALI MOGHADDAM tarafından hazırlanan “*Agrotis segetum* (Denn. ve Schiff)(Lepidoptera: Noctuidae) Orta Bağırsak Hücrelerine Lektinlerin Bağlanması” adlı tez çalışması 14/07/2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Doç.Dr. Nursel GÜL

**Jüri Üyesi:**

**Başkan** : Prof.Dr. Şayeste DEMİREZEN  
Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji A.B.D.

**Üye** : Doç.Dr. Reyhan ÇOLAK  
Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji A.B.D.

**Üye** : Doç.Dr. Nursel GÜL  
Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji A.B.D

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof.Dr. Orhan ATAKOL**  
**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### *AGROTIS SEGETUM* (DENN. VE SCHIFF) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) ORTA BAĞIRSAK HÜCRELERİNE LEKTİNLERİN BAĞLANMASI

Naznoosh SHOMALİ MOGHADDAM

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Nursel GÜL

*Agrotis segetum* larvalarının orta bağırsak hücre zarları ve peritrofik membranları lektinle boyanarak incelenmiştir. *Agrotis segetum* bireyleri laboratuvar şartlarında yetiştirilmiştir. *Agrotis segetum*' un 5. evre larvaları deneylerde kullanılmıştır. Larvalardan alınan dokular fiksasyon ve dehidrasyon işlemlerinden geçirildikten sonra parafin gömme ortamına alınmıştır. Parafin bloklarından alınan kesitler, Avidin-Biotin Peroksidaz enzim kompleksli lektin bağlama metoduyla boyanmıştır. BPA (*Bauhinia purpurea*) ve BS-I (*Griffonia simplicifolia*) lektinlerinin hem apikal hücre zarlarını hem de hücre sitoplazmalarını kuvvetli boyadığı ışık mikroskopunda gözlenmiştir PNA (Pea Nut Agglutinin) ve UEA-1 (*Ulex europaeus*) lektinleri *Agrotis segetum* larvalarının orta bağırsak hücrelerinin apikal zarlarını ve peritrofik membranlarını orta şiddette boyamıştır. WGA (Wheat Germ Agglutinin) ve Con-A (*Canavalia ensiformis*) lektinleri az şiddette hücre zarlarını ve peritrofik membranı boyamıştır.

BPA ve BS-I bağırsak hücre zarlarını ve peritrofik zarları kuvvetli boyaması bu zarlarda D-galaktoz birimlerinin bulunmasına bağlı olabilir, düşünülmektedir.

**Temmuz 2008, 42 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Böcek, *Agrotis segetum*, Orta bağırsak hücreleri, Lektinler, Parafin kesitler

## ABSTRACT

Master. Thesis

### LECTINS BINDING MIDGUT CELLS OF *AGROTIS SEGETUM* (DENN. AND SCHIFF.)(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Naznoosh SHOMALI MOGHADDAM

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Science  
Department of Biology

Supervisor: Assoc.Prof.Dr. Nursel GÜL

Peritrophic membranes and cell membranes of larvae of *Agrotis segetum* were examined by lectin staining. Individuals of *Agrotis segetum* were cultured in conditions of laboratuvary. Fifth instar larvae of *Agrotis segetum* were used in assays. After fixation and dehydration process, the tissues were embedded in paraffin. Paraffin sections were stained by Avidin-Biotin Peroksidase method with six biotinylated and examined by light microscopy. Strong staining was observed with BPA (*Bauhinia purpurea*) and BS-I (*Griffonia simplicifolia*) which permitted strong visualization of the apical membrane and cytoplasm of columnar cells and peritrophic membrane of midgut of *Agrotis segetum*. Apical cell membranes and peritrophic membranes of mid gut of *Agrotis segetum* larvae were moderate stained by PNA (Pea Nut Agglutinin) and UEA-I (*Ulex europaeus*). WGA (Wheat Germ Agglutinin) and Con-A (*Canavalia ensiformis*) were weak stained apical cell membranes and peritrophic membranes of midgut of *Agrotis segetum* larvae.

Strong staining of BPA and BS-I lectins in *Agrotis segetum* midgut cells and peritrophic membranes, could be due to the presence of D-Galactose in these membranes.

**July 2008, 42 Pages**

**Key Words:** Insect, *Agrotis segetum*, Mid gut cells, Lectins, Paraffin sections

## **TEŐEKKÜR**

Bu tez çalışmasının her safhasında yakın ilgisini esirgemeyen, önerileri ile bana yol gösteren danışman hocam, Sayın Doç. Dr. Nursel GÜL' e (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi) ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme teşekkürlerimi sunarım.

Naznoosh SHOMALİ MOGHADDAM

Ankara, Temmuz 2008

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKUR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAKLAR ÖZETİ.....	3
2.1 <i>Agrotis Segetum</i> .....	3
2.1.1 Tanımı ve yaşamı.....	3
2.1.2 Konukçuları.....	5
2.1.3 Doğal düşmanları ve etkinlikleri.....	6
2.2 Böceklerin Bağırsak Yapısı.....	6
2.2.1 Sindirim sisteminin genel yapısı.....	6
2.2.2 Orta bağırsak genel yapısı.....	8
2.3 Lektinler.....	10
2.3.1 Lektin familyaları.....	12
2.3.2 Lektinlerin fonksiyonları.....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1 Böcek Kültürü.....	17
3.2 Işık Mikroskopuna Materyal Hazırlanması.....	17
3.3 Avidin-Biotin-Peroksidaz (AVP) Yöntemiyle Lektinli Boyama İşlemleri .....	17
4. BULGULAR.....	20
5. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	33
KAYNAKLAR.....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	42

## SİMGELER DİZİNİ

ASAL	<i>Allium sativum</i> leaf agglutinin
AVP	Avidin-Biotin-Peroxidase
BPA	<i>Bauhinia purpurea</i>
BS-I	<i>Griffonia simplicifolia</i>
CD	Cluster of Differentiation
Con-A	<i>Canavalia ensiformis</i>
DAB	Di-Amino Benzidin
HPA	<i>Helix pomatia</i> Agglutinin
PBS	Phosphat Buffer Saline
PNA	Pea Nut Agglutinin
RCA-1	<i>Ricinus communis</i> Agglutinin
UEA-1	<i>Ulex europaeus</i>
VAA	Viscum album-agglutinin
WGA	Wheat Germ Agglutinin

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 <i>Agrotis segetumun</i> yumurta şekli.....	3
Şekil 2.2 <i>A.segetum</i> 'un 4. devre larva.....	4
Şekil 2.3 <i>A.segetum</i> 'un pupa şekli.....	5
Şekil 2.4 <i>A.segetum</i> 'un kelebek hali.....	5
Şekil 2.5 İnce bağırsağın genel yapısı.....	8
Şekil 2.6 Endojen bir lektinin (galektin-1) hücre membranı Glikoproteinlerindeki karbonhidrat rezidüleri ile etkileşimi.....	12
Şekil 4.1 <i>A.segetum</i> orta bağırsağındaki silindirik ve goblet hücrelerinin BPA ile boyanması.....	20
Şekil 4.2 <i>A.segetum</i> orta bağırsağının BPA ile boyanmış genel görüntüsü.....	21
Şekil 4.3 <i>A.segetum</i> orta bağırsağındaki silindirik ve goblet hücrelerinin BS-I ile boyanması.....	22
Şekil 4.4 <i>A.segetum</i> orta bağırsağının BS-I ile boyanmış genel görüntüsü.....	23
Şekil 4.5 <i>A.segetum</i> orta bağırsağındaki silindirik ve goblet hücrelerini PNA ile boyanması.....	24
Şekil 4.6 <i>A.segetum</i> orta bağırsak PNA ile boyanmış genel görüntüsü.....	25
Şekil 4.7 <i>A.segetum</i> orta bağırsağındaki silindirik ve goblet hücrelerini UEA-1 ile boyanması.....	26
Şekil 4.8 <i>A.segetum</i> orta bağırsak UEA-1 ile boyanmış genel görüntüsü.....	27
Şekil 4.9 <i>A.segetum</i> orta bağırsağındaki silindirik ve goblet hücrelerinin WGA ile boyanması.....	28
Şekil 4.10 <i>A.segetum</i> orta bağırsak WGA ile boyanmış genel görüntüsü.....	29
Şekil 4.11 <i>A.segetum</i> orta bağırsağındaki silindirik ve goblet hücrelerinin Con-A ile boyanması.....	30
Şekil 4.12 <i>A.segetum</i> orta bağırsak Con-A ile boyanmış genel görüntüsü.....	31



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 İzole edilmiş bazı bitkisel lektinler ve spesifik karbohidratlar.....	14
Çizelge 2.2 İzole edilmiş bazı hayvansal lektinler ve bağlandıkları spesifik karbohidratlar.....	14
Çizelge 3.1 Deneyde kullanılan lektinlerin listesi.....	18
Çizelge 4.1 Kullanılan lektinlerin zarları boyaması.....	32

## 1. GİRİŞ

Zararlı bir böcek olan *Agrotis segetum*, dünyanın ve Türkiye'nin bir çok yerinde yayılış gösteren ve halk arasında bozkurt olarak bilinen bir kelebektir. Polifaj bir böcek olduğu için süs bitkilerine ve tütün, pamuk, şeker pancarı, ayçiçeği gibi endüstri bitkilerine; patates, havuç, ıspanak, soğan, fasulye, biber gibi sebzelere oldukça fazla zarar vererek, ülke tarım ekonomisini olumsuz yönde etkilemektedir. *A. segetum*, larva döneminin ilk evrelerinde bitkilerin fidelerine, son evrelerinde ise bitkilerin toprak altı yapılarına (kök, gövde) zarar vermektedir. Şeker pancarına, pamuk fidelerine ve patatese büyük ölçüde zarar verdiği için ürün kaybına neden olmaktadır (Erinç 1996, Gül ve Ayvalı 1995, Yıkılmaz ve Deveci 2004, [www.inra.fr](http://www.inra.fr)).

Lektinler, hücreleri birbirine çapraz bağlayan ve çöktüren glikoprotein veya protein yapısında olan moleküllerdir. En ilkel yapı olan virüslerden itibaren bütün canlıların hücre zarında veya hücreler arası ortamında bulunurlar. Bu moleküller hücrelerin birbirini tanımasında, hücre-hücre haberleşmesinde ve hücre zarında reseptör olarak görev alırlar (Lis and Sharon 1986, Sharon 1977, Vierbuchen 1991, Gheri *et al.* 2002). Lektinler, kovalent olmayan bağlarla spesifik karbohidratlara bağlanırlar ve karbohidratların kimyasal yapılarını modifiye etmezler. Bu bağlanma geri dönüşümlüdür. Lektinler çeşitli markerlerle örneğin Floresanlı boyalarla veya enzimlerle örneğin peroksidazlarla konjuge edilirler (Schaumburg-Lever *et al.* 1984). Bu nedenle lektinler birçok biyolojik olayların anlaşılmasını sağlayan önemli moleküllerdir. Özellikle bitki tohumlarından izole edilen lektinler, ticari olarak satılmaktadır. Ticari lektinlerin kanser teşhisinde, epitel hücrelerinin farklılaşmasında, bakteri türlerinin teşhisinde (infeksiyonel hastalıklarda), T lenfositlerinin olgunlaşmasında, mitoz bölünmenin uyarılmasında ve yumurta-sperm ilişkisinin anlaşılmasında kullanıldığı belirtilmiştir (Sharon 1977, Gheri *et al.* 2002, Lever *et al.* 1984, Danguy and Genten 1990, Vierbuchen 1991, Anadolu *et al.* 1992, Miyazawa *et al.* 1994, Gül *et al.* 2008).

Böceklerle mücadelede besin diyetine lektin konularak, böceğin besin alımı engellenmekte ve ölümü sağlanmaktadır. Dipter türlerinden *Lutzomyia longipalpis* sineğinin orta bağırsak hücre zarlarına N-Asetil-Galaktozamine spesifik olarak bağlanan HPA (*Helix Pomatia* Agglutinin) lektininin bağlandığını elektron mikroskobunda gözlemişlerdir. Sauvion ve arkadaşları (2004) fıstık aphidinin besinine Con-A lektini ilave etmişlerdir. Con-A lektinin böcek bağırsak hücre zarlarına bağlandığı ve böceğin ölümüne neden olduğunu bildirmişlerdir.

Lektinlerle yapılan araştırmalar doğrultusunda memleketimizin ekonomik zararlıları arasında bulunan *A. segetum* 5.evre larvalarında orta bağırsak hücre zarlarının glikoprotein yapısı çeşitli lektinler kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Larvalar genellikle 5. evrede bitkilere daha çok zarar verdiği için (Kaya 1979, Erinç 1996) ve böceklerdeki orta bağırsak omurgalılarıdaki midenin görevini (Franklin 1935, Levy *et al.* 2004a,b)yaptığı için deneylerde materyal olarak *A. segetum* bireylerinin bu özellikleri kullanılmıştır. Orta bağırsak hücre zarlarının reseptör görevini üstlenmiş glikoprotein yapısının belirlenmesi, ileride böcek ile yapılacak olan mücadelede hangi lektinin böceğe karşı kullanılacağını belirlemek amacıyla bu tez çalışması yapılmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 *Agrotis segetum* (Denn. ve Schiff.)

#### 2.1.1 Tanımı ve yaşayışı

Ülkemizde sebzelere zarar veren *Agrotis* türleri arasında en yaygın olanı *A. segetum* ve *A. ipsilon* 'dur. Ayrıca *A. exclamationis* , *A. crassa* ve *A. spinifera* türleri bulunmaktadır.

*A. segetum* halak arasında bozkurt olarak bilinen erginleri 35 - 40 mm arasında değişen kanat açıklığına sahip siyah vücutlu gece kelebeklerdir. Yumurtaları iki yanından basık küre şeklindedir ve ilk bıraktığında beyazımsı renktedir, embriyonun çıkmasına yakın siyahımsı kahverengidir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 *Agrotis segetum*'un yumurta şekli ([www.tagem.gov.tr](http://www.tagem.gov.tr)).

Larvalar olgunlaşınca kadar 6-7 dönem geçirir, her dönemde larva farklı desenlere sahiptir. Yeni çıkmış larvalar 1.5-1.7 mm son dönem larvalar ise 3.5-4.0 mm boyundadır. Baş kapsülü soluk kahve renklidir ve protoraks siyah veya koyu gri renktedir ve üzerinde boyuna soluk gri renkli bantlar mevcuttur (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 *A. segetum* 'un 4. evre larvası ([www.kkgm.gov.tr](http://www.kkgm.gov.tr)).

Pupaları kızıl kahve renk tonlarındadır ve 16.5 - 20.0 mm boyundadır. Kışı olgun larva halinde toprakta geçiren larvalar ilkbaharda pupa dönemine geçer ve nisan ayının ikinci yarısından sonra kelebekler görülmeye başlar.

(Şekil 2.3).



Şekil 2.3 *A. segetum* 'un pupa şekli ([www.kkgm.gov.tr](http://www.kkgm.gov.tr)).

Kelebekler (Şekil 2.4 ) yumurtalarını yaprak altlarına veya toprağa tek tek ya da gruplar halinde bırakır. Bir dişi 1500-2800 yumurta bırakır. Dölllenmiş yumurtalar iklim koşullarına göre 2-15 gün arasında açılır. *A. segetum* bireyleri Karadeniz ve Marmara Bölgelerinde 2 nesil, Ege bölgesinde 3-4 nesil vermektedirler ( Kaya 1979).



Şekil 2.4 *A. segetum* 'un kelebek hali ([www.tagem.gov.tr](http://www.tagem.gov.tr)).

### 2.1.2 Konukçuları

*A. segetum* tütün, pamuk, ayçiçeği, pancar, hububat, yem bitkileri, patates, mısır, domates, patlıcan, biber, kavun, bazı süs bitkileri, meyve fidanları ve yabancı otlar üzerinde yaşamını sürdürürler ([www.aftabaran.blogfa.com](http://www.aftabaran.blogfa.com)).

### 2.1.3 Doğal düşmanları ve etkinlikleri

*A. segetum* larvalarının doğadaki düşmanları bazı arı ve sinek türleridir. Ancak bunların etkinlikleri tam olarak bilinmemektedir ([www.tagem.gov.tr](http://www.tagem.gov.tr)). *A. segetum* larvalarını yok eden türler:

Hymenoptera - Braconidae'den :

*Meteorus rubens* Nees

*Echinomyia magricornis*

Diptera - Tachinidae'den:

*Gania bimaculata* Wied

*Gonia cilipeda* Rondani

*Wagneria nigrans* Meigen

*Linnaemyia compta* Fallen

Hymenoptera - Ichneumonidae'den:

*Barylypa humeralis* (Bra.)

*Barylypa carinata* (Brisch.)

## 2.2 Böceklerin Bağırsak Yapısı

### 2.2.1 Sindirim sisteminin genel yapısı

Böcek larvalarında sindirim sistemi; ağızla başlayıp, farinks, özofagus, ön bağırsak, orta bağırsak, ileum, kolon ve rektuma kadar devam eden düz bir boru şeklindedir ( Estada and Ferre 1994, Yıkılmaz ve Deveci 2004). Sindirim kanalında 5 çeşit hücre tabakası bulunmaktadır (Sutherland *et al.* 2002, Yılmaz ve Deveci 2004). Bu tabakalar:

1. Peritrofik zar (membran)
2. Epitel tabakası
3. Bazal zar
4. İntima
5. Kas tabakası

Sindirim kanalı genel olarak üç kısımdan oluşur: ön bağırsak, orta bağırsak, son bağırsak (Levy *et al.* 2004a). Ön ve son bağırsak ektoderm tabakasından meydana gelir. Orta bağırsak ise embriyonun endoderm tabakasından farklılaşarak meydana gelir. Sindirim kanalına bazı organlar bağlanmıştır. Örneğin malpigi boruları son bağırsağa ve sindirim bezlerinin kanalları orta bağırsağa açılmaktadır (Cermen *et al.* 2007, Barbeta *et al.* 2007 ).

Ön bağırsak, böceklerin çoğunda uzun düz bir boru şeklindedir. Farinks, özofagus, kursak ve proventrikulus kısımları bulunmaktadır. Genelde besinler, önce ön bağırsakta depolanır sonra orta bağırsağa geçip sindirim yoluna girer. Ön bağırsak kardiyak valfi ile orta bağırsaktan ayrılır (Franklin 1935).

Orta bağırsak sindirim kanalının en önemli kısmıdır. Orta bağırsakta sindirim ve absorpsiyon olayları meydana gelmektedir. Bağırsağın bu bölgesi omurgalılarıdaki mide görevini üstlenmiştir. Sindirim kanalındaki salgı bezleri salgı ürünlerini orta bağırsağa salgırlar (Franklin 1935, Amanai *et al.* 1991). Sindirilmemiş besin maddeleri orta bağırsaktan direkt olarak son bağırsağa geçer. Orta bağırsak pilorik valfi ile son bağırsaktan ayrılmaktadır.

Histolojik olarak son bağırsak, intima, epitel ve kas tabakasından oluşmuştur (Sutherland *et al.* 2002, Levy *et al.* 2004a). Genelde su, son bağırsağın duvarından absorbe edilir. Lepidopterlerin larva döneminde son bağırsak pilorus, ileum, kolon ve rektum kısımlarından oluşmaktadır. Son bağırsağın pilorus kısmına malpigi boruları açılmaktadır.



## 2.2.2 Orta bağırsağın genel yapısı

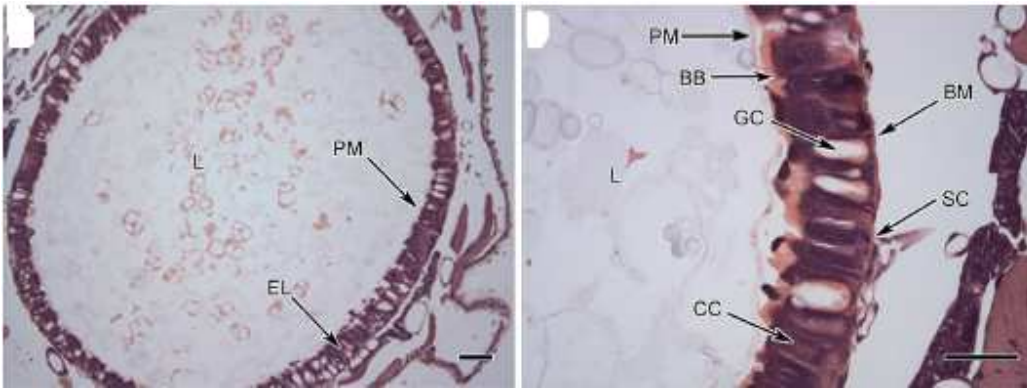
Lepidopterlerde orta bağırsak duvarı lümeden dışa doğru:

Peritrofik zar ,

Epitel tabakası,

Bazal membran

Kas tabakasından oluşur (Şekil 2.5 ).



Şekil 2.5 Orta bağırsağın genel yapısı (Levy *et al.*2004b).

L. Lümen, PM. Peritrofik zar, EL. Epitel tabakası, GC. Goblet hücresi, CC. Silindirik hücreler, BM. Bazal membran. SC.Kök hücre, BB.Fırça kenarı.

Sindirim kanalının diğer kısımlarına göre orta bağırsağın epitel tabakası daha kalındır. Fakat kas tabakası ön bağırsağa göre daha incedir. Orta bağırsakta intima tabakası görünmemektedir (Franklin 1935).

- Peritrofik zar: Ön ve orta bağırsak duvarları tek tabakalı epitel ile örtüdür. Böcek bağırsağındaki hücresel olmayan ve besini çepeçevre saran yapıya peritrofik zar denir. Besin ile orta bağırsak epiteli arasında yer alan ve seçici geçirgen özelliğe sahiptir. Peritrofik zar, koruyucu kütikula tabakası bulunmayan orta bağırsak epitelini, besinin mekanik etkisinden ve patojenlerin olası enfeksiyonlarından korur. Ayrıca peritrofik zar orta bağırsak lümenini fizyolojik olarak farklı bölgelere ayırır. Besinle peritrofik zar arasında kalan alana endoperitrofik saha, peritrofik zar ile orta bağırsak hücreleri arasında kalan alana ise ektoperitrofik saha adı verilir. Peritrofik

zar, kitin taşıyan mikrofibrillerin oluşturduğu ağısı yapının, karbohidrat ve proteinlerden oluşmuş bir matrikse gömülmesiyle şekillenir (Yıkılmaz ve Deveci 2004, Martin *et al.* 2006). Sivrisinekler de bulunan peritrofik zarında bulunan kitinin N-As-Glukozamini bağladığı tespit edilmiştir (Huber *et al.* 1991). Malaria parazitinde bulunan kitinaz enziminin sivrisineklerin peritrofik zarın daki kitin yapısını N-As-Glukozaminle bağlanarak sindirdiği anlatılmıştır. Elvin ve arkadaşları (1996) *Lucilia cuprina* larvalarında ki peritrofik zar yapısında Peritrophin-44 proteinini revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ile tespit etmişlerdir.

Peritrofik zar *Lepidoptera* larvalarında sadece larva döneminde bulunmaktadır (Franklin 1935).

- Epitel tabakasında dört çeşit hücre bulunur ( Martoja and Ballan 1984, Zitnan *et al.* 1993, Junquera *et al.* 1998).

1. Silindirik hücreler
2. Goblet hücreler
3. Kök hücreler
4. Endokrin hücreler

Normalde silindirik epitel hücreleri çok sayıda ve yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Bu hücreler, genellikle bazofilik sitoplazmaya sahiptirler. Bu hücrelerin apikal bölgeleri asidofilik özelliktedir ve mikrovilüslerden dolayı fırça gibi bir yapı görünümündedir ( Gül vd. 2001, Levy *et al.* 2004b, Cermenati 2007, Barbeta 2007).

1. Goblet hücreleri, mukus salgılayan kadeh şeklindeki hücrelerdir. Bu hücrelerin çekirdekleri bazalde yer alır. Hücrelerin apikal kısımları salgı ile dolu olduğundan genişleme göstermektedir (Junquera *et al.* 1998).

Kök hücreleri, silindirik epitel hücrelerinin arasında ve genellikle bazal membrana yakın yerlerde bulunur. Bu hücreler bölünüp çoğalarak ve farklılaşarak bağırsaktaki diğer hücreleri oluştururlar (Barbeta *et al.* 2007, Cermenati *et al.* 2007).

Endokrin hücreleri koni şeklindedir ve şeffaf bir sitoplazmaya sahiptirler. Silindirik epitel hücrelerinin arasında ve çoğunlukla bazal membrana yakın bölgelerde yer almışlardır (Andriés *et al.* 1985, Gül vd. 2001).

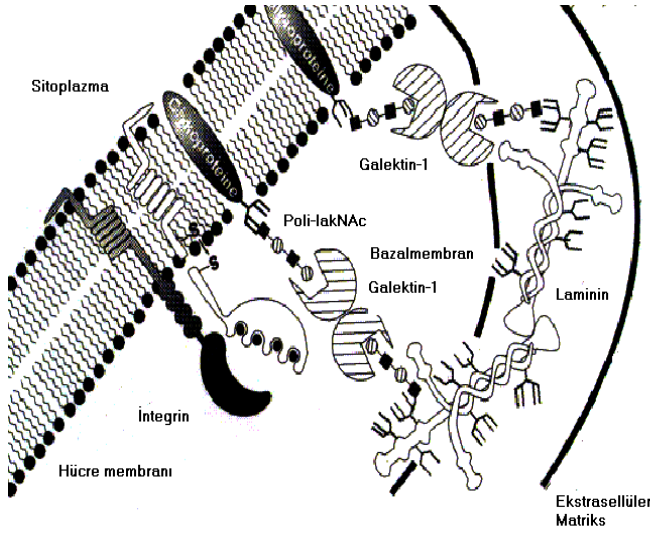
### 2.3 Lektinler

Lektinler üzerine yapılan çalışmalar 19. Yüzyılın son çeyreğinde *Ricinus communis* bitkisinden elde edilen ekstraktın eritrositler üzerine aglutine edici etkisinin keşfedilmesiyle başlamıştır (Seyrek ve Bildik 2001). Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda kırmızı kan hücreleri üzerindeki monosakkaritleri spesifik olarak tanıyıp bağlayabilen ve uzun yıllar sonra (1954) lektin, (latince legere = seçici anlamında) olarak adlandırılan proteinlerin aglutinasyon yaptığı anlaşılmıştır. 20'nci yüzyılın başlarında bitkilerde bulunduğu düşünülen lektinlerin, son yıllardaki araştırmaların ışığında, yumuşakçalardan omurgalılara kadar olan bütün canlılarda bulunduğu anlaşılmıştır. Lektinlerin birçok biyolojik olayın şekillenmesinde rol oynadıkları tespit edilmiştir (Sharon 1977, Sharon and Lis 2004). Binlerce yıldan bu yana lektinlerin evrim süreci içerisinde kaybolmadan varlıklarını sürdürmeleri, bunların biyolojik rollerinin önemli olduğu kanısını vermektedir. Fakat organizmalarda ne tür bir rol oynadıkları hala tartışmalıdır (Gabiüs 1997, Hedemann *et al.* 2007).

Lektinler üzerine yapılan çalışmaların yoğunlaştığı son 20 yıl içerisinde, bu molekülleri diğer moleküllerden ayıran bir çok özellik ortaya çıkmıştır. Enzim ve antikor özelliğinde olmadıklarına ilişkin ilk tanım 1988 yılında Barondes tarafından yapılmış ve bu tanımlama bütün araştırmacılar tarafından benimsenmiştir. Çünkü lektinlerin hücrelerdeki sentezi herhangi bir antijen tarafından uyarılması sonucunda değil, genler tarafından kontrol edilmektedir. Ayrıca, kendileri için spesifik karbonhidratlara bağlanan bu proteinler, glikozidazlar ve glikoziltransferazların aksine bağlandıkları karbonhidrat yapılarını değiştirmediklerinden bu özellikleri ile enzimlerden farklılık gösterirler. Lektinlerin çoğu glikoprotein yapısındadır. Antikorların aksine lektinler yapısal olarak birbirine benzemezler. Lektinler, denatüre edici ajanlarla alt ünitelerine ayrılabilirler. Alt ünitelerin

sayısı 2-4 olabildiği gibi en fazla 18 olabilir. Kural olarak her bir alt birim, belli bir karbohidrata bağlanma yeteneğine sahiptir. Karbohidratlarla lektinler arasında oluşan bağlar kovalent özellikte olmayıp, zayıf nitelikli hidrojen köprüsü bağlarıdır (Sharon and Lis 2004).

Lektinler hücrelerin yüzey reseptörlerindeki karbohidrat birimlerine bağlanarak hücrelerin çökmelerini (aglutine olamlarını sağlayan glikoprotein veya protein yapısındaki moleküllerdir (Sharon 1977, Lis and Sharon 1986, Vierbüchen 1991, Sharon and Lis 2004). Bir lektinin aglutine edici etkisinin şekillenebilmesi için karbohidrat zincirlerinden sadece birine bağlanması yeterli olmamakta, en az iki karbohidrat yapısına bağlanması gerekmektedir. Lektinler sadece kendilerine özgü olan monosakkaritler (L-Fukoz, D-Galaktoz, D-Mannoz) ile etkileşime girerler. Fakat bazı lektinler basit şekerler yerine kompleks şekerlerle örneğin  $\beta$ -D-Galaktozido (1-3) N-Asetil-D-Galaktozamin ile reaksiyona girme eğilimindedirler (Basu *et al.* 1987; George *et al.* 2007) (Şekil 2.6) .



Şekil 2.6 Endojen bir lektinin (galektin-1) hücre membranı glikoproteinindeki Poli-lak NAc birim ile etkileşimi (Seyrek ve Bildik 2001).

### 2.3.1 Lektin familyaları

Lektinlerin sınıflandırılması karbohidratlara bağlanma özelliklerine göre yapılmıştır. Buna göre lektinler bazı familyalara ayrılmıştır (Sharon 1977, Lis and Sharon 2004).

- Galektinler: Hayvansal lektinlerin hızla gelişen familyasıdır. Bu familya üyelerinin tamamı galaktoz bağlanma özelliği gösterir.
- C-Tipi (Ca Bağlı) Lektinler: Hayvansal lektinlerin oldukça büyük familyasıdır. Fonksiyonları ve yapıları farklı olan üyeleri mevcuttur. C tipi lektinlerin çeşitleri vardır.
  - a- Selektinler: C tipi familyasında bulunurlar. Lökositlerin endotelial hücrelere bağlanmasını sağladıkları için C tipi lektinlerin alt familyası olarak sınıflandırılmışlardır.
  - b- Kolektinler: C tipi lektin domainlerini (parçalarını) ihtiva ettikleri ve kollagen benzeri bir yapı gösterdikleri için C tipi familyasının alt familyasıdır. Mannoza bağlanırlar.

- Omurgasız lektinleri: Omurgasızların vücut sıvılarında bulunan ve büyük bir olasılıkla vücutlarını koruyan bir faktör olarak görev yapan lektinlerdir. Bazı omurgasızlardaki lektinlerin hemolitik aktivite gösterdikleri bilinmektedir.
- Anneksinler: Lipitlere affinitesi olan protein yapısındaki lektinlerdir. Bu grup lektinler glikozaminoglikanlara bağlanma özelliğine sahiptirler. Bitkiler alemine ait lektinlerdir.
- Baklagiller (Leguminosae) lektinleri: Oldukça fazla sayıda üyesi bulunan lektindir. C tipi lektinlere karşılık birden fazla karbonhidrata bağlanma özelliği gösteren lektinlerdir. Bunlardan en bilineni Concavalin A'dır.
- Ricinler: Yüzyıldan daha fazla bir zaman önce Rusya'da keşfedilmiş ilk lektindir. Birçok homolog üyesi vardır. Şekerlere bağlanma özelliği veya toksik özellik gösterirler.

### 2.3.2 Lektinlerin fonksiyonları

Dokuların şekillenmesinde hücreler arası ilişki kurulması ve iletişim oldukça önemlidir. Hücrelerin hemen hepsi membran yüzeylerindeki sialik asitin yarattığı negatif yükten dolayı birbirleriyle doğrudan iletişim kurmazlar. Hücreler, zarlardaki bir çok aracı molekül (lektinler, karbonhidratlar, laminin, integrin vs) üzerinden iletişimlerini sağlarlar. Hücrelerin birbirlerine karşı belli bir yatkınlık gösterdikleri uzun yıllardan beri bilinmektedir. Özellikle 1950'li yılların ortalarından bu yana yapılan yoğun çalışmalar, hücreler arası iletişimin hücre yüzeylerinde lokalize olan moleküllerle yapıldığını ortaya çıkarmıştır (Basu *et al.* 1987, Seyrek ve Bildik 2001, Wakitani *et al.* 2008).

Lektinlerle, hücre zarlarındaki karbonhidrat üniteleri arasında anahtar kilit prensibine dayanan karbonhidrat-protein etkileşimleri; hücreler arası haberleşmede, sinyal transferinde, hücre içi protein transportunda, döllemede, hücre farklılaşmasında, hücre adezyonunda, büyümenin kontrolünde, interferon ve sitokin salgılanması gibi immunolojik olaylarda, makrofajların fagositoz için uyarılmasında, patolojik olaylarda

hücrelerin transformasyonunda, metastazda, embriyogenezde, ekzositoz ve endositozda rol oynarlar (Seyrek ve Bildik 2001, Lis and Sharon 2004).

Bitkisel ve hayvansal lektinler hücre zarlarındaki glikoprotein veya glikolipit reseptörlerinin terminal bölgelerinde bulunan karbohidrat birimlerine spesifik olarak bağlanırlar (Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2) ( Seyrek ve Bildik 2001, George *et al.* 2007).

Çizelge 2.1 İzole edilmiş bazı bitkisel lektinler ve spesifik karbohidratlar

İzole edilen bitki	Kısaltılmış adı	Spesifik olduğu şeker
<i>Canavalia ensiformis</i>	ConA	mannoz, glukoz
<i>Triticum vulgare</i>	WGA	(GlcNAc) <sub>2</sub>
<i>Phaseolus vulgaris</i>	PHA	GalNAc
<i>Ricinus communis</i>	RCA	Galaktoz
<i>Ulex europaeus</i>	UEA	Fukoz

Çizelge 2.2 İzole edilmiş bazı hayvansal lektinler ve bağlandıkları spesifik karbohidratlar

Adı	Bulunduğu Yer	Spesifik Karbohidrat
Selektinler (L,P,E)	Lökositler(L), trombositler(P),endotel hücreleri(E,P)	Fukozlanmış/sulfatlanmış epitoplara
Mannan-bağlayan lektin	Plazma, karaciğer	Mannoz, fukoz
Asialoglikoprotein-reseptörü	Hepatositler, testis	Galaktoz
Sümfaktan rotein A ve D	Alveolar sümfaktan	Fukoz, maltoz, ManNAc
CD69	Aktif T ve B hücreleri, nötrofiller, Trombositler	Bilinmiyor
Galektin-1	Bir çok hücre türünde	Galaktoz

Bilindiği gibi lektinler zarlardaki spesifik karbohidratlara bağlanırlar. Eğer ortamda bu karbohidratlar bulunursa lektinlerin bağlanacağı reseptörlere bağlanarak, lektinlerin bağlanmasını inhibe etmektedir (Sharon 1977, Penldland *et al.* 1988, Mc Kenzie and Preston 1992a,b). Örneğin BPA lektini N-Asetil-D-Galaktozamin ve D-Galaktoz karbohidrat birimleriyle, Con A lektini ise Mannoze ve Glukoz ile inhibe olmaktadır.

Bir çok bitkisel lektinin insanlarda ve hayvanlarda lenfositlerin bölünmesini uyarması, bunların bitkilerde de hücre bölünmesini stimüle edici rollerinin olabileceği hipotezi öne sürülmüşse de bugüne kadar deneysel olarak ispat edilebilmiş değildir (Rüdiger 1997) . Diğer bir varsayım ise; lektinlerin bitkileri mantar enfeksiyonlarından koruduğu şeklindedir fakat bu varsayım henüz aydınlığa kavuşmamıştır.

Lektinlerin kanser tedavisinde kullanılmasına yönelik geliştirilen çalışmada antikanser etkili ilaçların tümörlü dokularda yoğunluğunun ve etki zamanının artırılması yapılmıştır. Bugün kullanılmakta olan kemoterapik ilaçların normal vücut hücreleri üzerine oldukça fazla yan etkileri bulunmaktadır. Hücreler için toksik olan ilaçlar (methotreksat, 5'-dezoksifloruridin, filotoksin etoposid vs.) tümörlü dokular için spesifik olan bir lektinle bağlandıktan sonra vücuda verildiğinde toksik madde tümör hücrelerinde lokalize olduğu ve bunun normal somatik hücrelerdeki etkisinin lektin sayesinde minimuma indirildiği (lectin-mediated drug-targeting) tespit edilmiştir (Thön *et al.* 2007).

Bazı bitkisel lektinler ise zehirli olmalarından dolayı hayvanlar tarafından tüketilmelerine karşı doğal koruyucu olarak işlev görürler. Hayvanlarca tüketilen bu lektinler bunların hücrelerinde protein sentezini yavaşlatırlar. Diğer bazı lektinlerin de bağırsak mukozasına bağlanarak besin maddelerinin absorpsiyonunu engelledikleri bildirilmiştir. Hatta bunlar zamanla bağırsak mukozasını zedeleyerek bakteriyel enfeksiyonların gelişmesine neden olabilirler (Seyrek ve Bildik 2001, Gheri *et al.* 2002, Gabinus 1997). Concanavalin A lektininin fındık aphidi (*Acyrtosiphon pisum*) bağırsak hücrelerine bağlanarak, böceğin ölümüne sebep olduğu bildirilmiştir (Sauvion *et al.* 2004). Lepidopter (Czapla and Lang 1990, Harper *et al.* 1995) ve Coleopter (Czapla and Lang 1990, Murdock *et al.* 1990)



türlerine karşı PHA ve WGA lektinlerinin etkili olduğu bildirilmiştir. Hemipter türlerine karşı Con A lektininin etkili olduğu tespit edilmiştir (Van Damme *et al.* 1988).

Leguminosae familyasına ait *Griffonia simplicifolia* türünden elde edilen ve N-As-Glukozamine spesifik olan lektinin *Callosobruchus maculatus* (F.) türüne insektisidal etki yaptığı açıklanmıştır (Zhu *et al.* 1996).

*Allium sativum* yaprağından elde edilen bir lektinin (ASAL) *Lipaphis erysimi* denilen aphide karşı insektisidal etki yaptığı rapor edilmiştir (Bandyopadhyay *et al.* 2001, Dutta *et al.* 2005).

Singh ve arkadaşları (2006) *Glechoma hederacea* (ground ivy) insektisidal lektininin özelliklerini moleküler seviye de belirlemişlerdir.

Ekonomik bir zararlı olan *A.segetum* larvalarında ilk defa çalışılan bağırsak hücre zarlarının glikoprotein yapısındaki uç bölge karbohidratlarının belirlenmesi gibi önemli biyolojik özelliklerinin neler olacağı tez çalışmasında incelenmiştir. Bu konuda yapılan çalışmalar az sayıdadır. Bu tez çalışmasıyla böcek bağırsak hücrelerinin karbohidrat molekülleri belirlenerek ilerdeki çalışmalarda *A.segetum* ile yapılacak olan biyolojik mücadelede hangi lektinlerin bu zararlıya karşı kullanılacağına yol göstermesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Böcek Kültürü

Çalışmada kullanılan *A. segetum* bireyleri Etimesgut Şeker Fabrikası'ndan elde edilmiştir. Laboratuvarında *A. segetum* larvaları şeker pancarının (*Beta vulgaris* var. *rapa*) taze yaprakları ile kelebekleri ise %10'luk bal çözeltisi ile beslenmiştir. *A. segetum* bireyleri 25±1°C, % 60-65 nem ve 16 saat (uzun gün) fotoperiyot uygulaması yapılan laboratuvar şartlarında beslenmiştir (Kaya 1979, Gül vd. 2001).

#### 3.2 Işık Mikroskobuna Materyal Hazırlama

Deneylerde *A. segetum* larvalarının 5. evre bireyleri ( bu evrede bitkilere daha çok zarar vermektedir) kullanılmıştır. Larvalardan alınan bağırsak örnekleri % 10'luk formaldehit çözeltisinde 24 saat tespit edilmiştir. Alkol serileri (% 70→ %100 Alkol) ile dehidrasyon yapılmış ve parafin gömme ortamına alınmıştır. Parafin gömme ortamındaki bloklardan mikrotomuyla 5 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Daha sonra kesitler aşağıda belirtilen Avidin-Biotin-Peroksidaz enzim kompleksi yöntemine göre lektinlerle boyanmış ve ışık mikroskobunda ( Olympus Vanox) incelenmiştir.

#### 3.3 Avidin-Biotin-Peroksidaz (AVP) Yöntemiyle Lektinli Boyama İşlemleri

Deneylerde Fosfat Tamponu (Phosphate Buffer Saline: PBS) (pH: 7.4) hem solusyonların hazırlanmasında hem de boyama işlemi sırasında kesitlerin yıkanmasında kullanılmıştır (Sauvion *et al.* 2002). Kullanılan PBS'nin formülü:

MgCl <sub>2</sub> :	0.1 gr
KCl :	0.2 gr
NaCl :	8 gr

CaCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O : 0.1 gr

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 1.325 gr

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 0.2 gr

Yukarıda miktarları verilen maddeler tartıldıktan sonra üzerine 1000 ml distile su ilave edilerek PBS tamponu hazırlanmıştır.

Deneylerde ticari olarak satın alınan ve Çizelge 3.1 'de gösterilen altı adet biyotinli lektin (SIGMA Chemical Co.) kullanılmıştır (Helliwell *et al.* 1989).

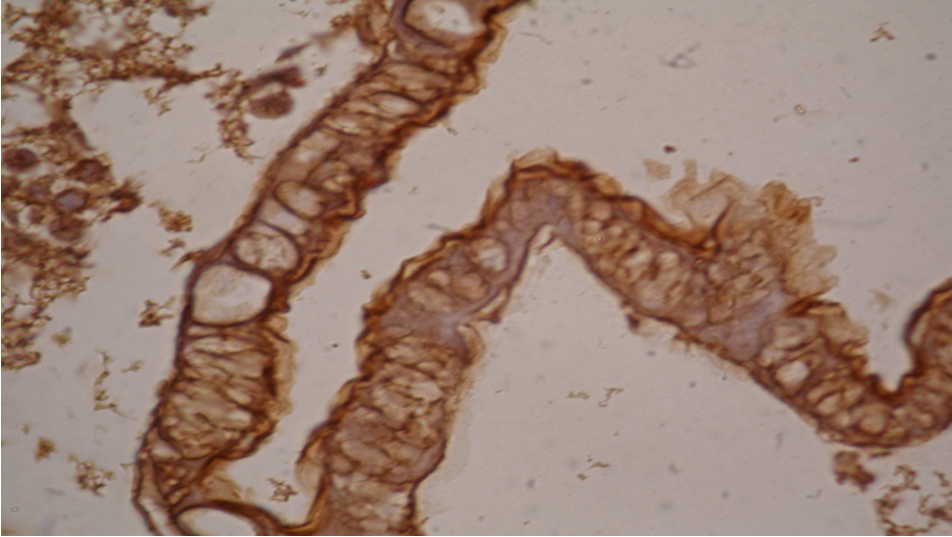
Çizelge 3.1 Deneyde kullanılan lektinlerin listesi

<b>Lektinler</b>	<b>Bağlandıkları spesifik karbohidratlar</b>	<b>Lektin Konsantrasyonları(µg/ml)</b>
<i>Canavalia ensiformis</i> (Con-A)	α-D- Mannose > α-D-Glucose	2.5
<i>Triticum vulgare</i> (WGA)	N-Acetylglucoseamine>sialic acid	1.0
<i>Arachis hypogaea</i> (PNA)	β-D- Galactose-(1→3)-D-N-Acetyl-Galactoseamine	5.0
<i>Ulex europaeus</i> (UEA-1)	α-L-Fucose	5.0
<i>Griffonia simplicifolia</i> (BS-I)	α- D- Galactose	5.0
<i>Bauhinia Purpurea</i> (BPA)	N-acetyl-D-galactosamine ve D-galactose	5.0

- Lektinler, Çizelge 3.1 'de gösterilen konsantrasyonlarda fosfat tamponuyla (PBS: pH 7.4) hazırlanmıştır (Helliwell *et al* 1989, Rhodes and Milton 1998 ).
- İlk olarak kesitler, 70°C etüvde 30 dakika tutularak parafini eritilmiştir
- Saf ksilol ve %96'lık alkol solusyonlarında 30 dakika bekletilip kesitlerdeki parafin artıkları uzaklaştırılmıştır (Alonson *et al* 2003, Stoddart and Jones 1998).
- Endojen peroksidazların bloke edilmesi için H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 10 dakika bekletilmiştir.
- Uygun konsantrasyonlarda hazırlanan lektin solusyonları , kesitlere damlatılarak 1 saat bekletilmiştir.
- Avidin-Biotin-Peroksidaz enzim kompleksinde ile kesitler 1 saat inkübe edilmiştir.
- Ardından kesitler iki kez PBS ile yıkanmıştır.
- Sonra 3 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile hazırlanmış 0.6 mg/ml Diaminobenzidin'de (DAB) 5 dakika bekletilmiştir.
- Kesitler, Harris Hematoksilin boyasıyla 5 sn bekletilerek karşıt boyama yapılmıştır.
- Tekrar PBS ile kesitler yıkanmış ve Olympus Vanox Marka ışık mikroskopunda incelenmiştir.
- Boyamanın spesifikliğı boyama işlemindeki lektinler uygun karbohidratlarla (0,1M ) inhibe edilerek yapılmıştır (Helliwell *et al.* 1989).

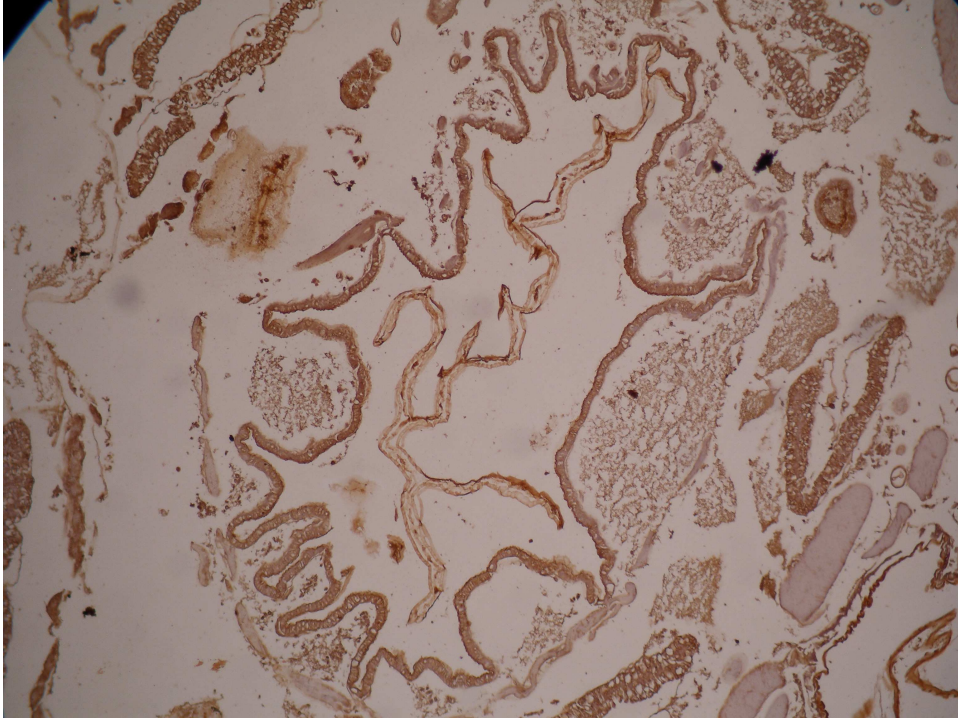
#### 4. BULGULAR

Yapılan tez çalışmasında *Agrotis segetum* 5. evre larvalarının orta bağırsağındaki silindirik epitel hücre zarlarında ve peritrofik zarlarda bulunan ve hücrelerle bağlantı kuran glikoproteinlerin uç bölgelerindeki karbohidrat birimleri çeşitli lektinler kullanılarak histokimyasal yönden tespit edilmiştir. Kullanılan lektinlerden BPA, zarlardaki glikoproteinlerin N-Asetil-D-Galaktozamin ve D-Galaktoz birimleriyle bağlanabilme yeteneğine sahiptir. BPA larvaların orta bağırsağındaki silindirik hücre zarların kuvvetli seviyede bağlanmıştır. Goblet hücre zarlarının her yönünün kuvvetli seviyede boyadığı gözlenmiştir. Özellikle hücrelerin apikal yüzeylerinde bu bağlanmanın daha kuvvetli olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle silindirik epitel hücrelerin apikal hücre zarlarında ve goblet hücre zarlarında N-Asetil-D-Galaktozamin ve D-Galaktoz birimlerinin bol miktarda bulunduğu tahmin edilmektedir. Apikal zarlara göre bazal zarlar lektinle daha az boyanmıştır. Bazal zarlarda daha az boyanma dikkate alındığında bu bölgelerde BPA lektininin bağlandığı karbohidrat birimlerinin apikal bölgedeki karbohidrat birimlerine göre daha az bulunduğu tahmin edilmektedir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 *A.segetum* orta bağırsağındaki silindirik ve goblet hücrelerinin BPA ile boyanması  
G. Goblet hücresi, (→) Apikal zar, L. Lümen, BZ. Bazal zar. X 670.

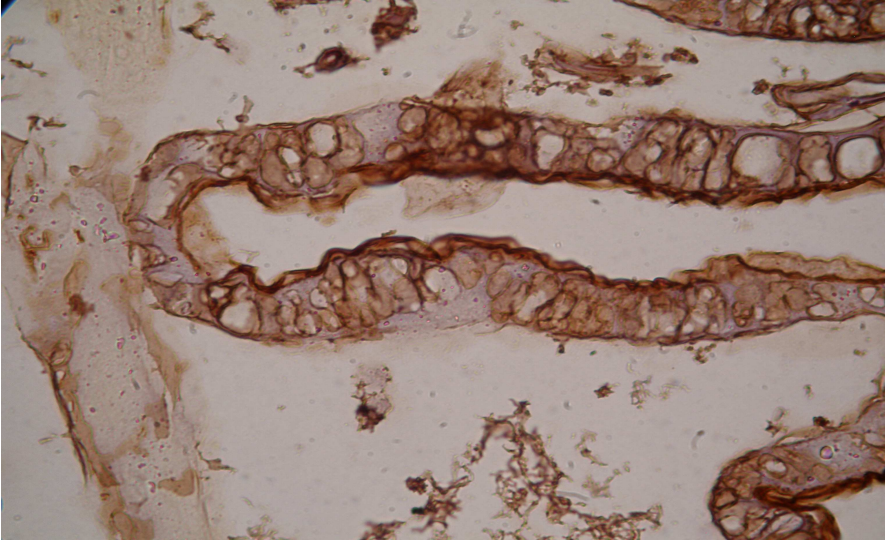
Larvaların bağırsak genel yapısı incelendiği zaman, bağırsak lümeninde peritrofik zarın belirgin bir şekilde bulunduğu gözlenmiştir. Peritrofik zar, bağırsak hücrelerini besinlerin patolojik ve mekanik etkilerinden koruma görevini üstlenerek bağırsakta bariyer oluşturmaktadır. Yabancı organizmaların ve besin moleküllerinin temas ettiği ve bağlandığı bölge olması nedeniyle oldukça önemli bir yapıdır. Boyama için kullandığımız lektinlerden BPA lektininin larvaların bağırsak lümenindeki peritrofik zarları orta seviyede boyadığı gözlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 *A.segetum* orta bağırsağın BPA ile boyanmış genel görüntüsü.

L. Lümen, (→) Peritrofik zar, ET. Epitel tabakası. X67.

BS-I lektinine bazı makalelerde (Zhu *et al.* 1996, Wakitani *et al.* 2008) GS-I (*Griffonia simplicifolia*) lektini adı verilmektedir. BS-I lektini reseptörlerin uç bölgelerinde bulunan  $\alpha$ -D-Galaktoz ile bağlanmaktadır. BS-I lektini BPA lektini gibi larvaların orta bağırsak epitel hücrelerinin apikal hücre zarlarını ve goblet hücre zarlarının her yönünü kuvvetli bir şekilde boyamıştır.  $\alpha$ -D-Galaktoz karbohidrat birimlerinin bağırsaktaki silindirik ve goblet hücre zarlarında yoğun olarak bulunduğu tahmin edilmektedir. Bazal zarların apikal zarlara göre daha az boyanması bu bölgelerde daha az  $\alpha$ -D-Galaktoz karbohidratının daha az bulundurduğu düşünülebilir (Şekil 4.3).

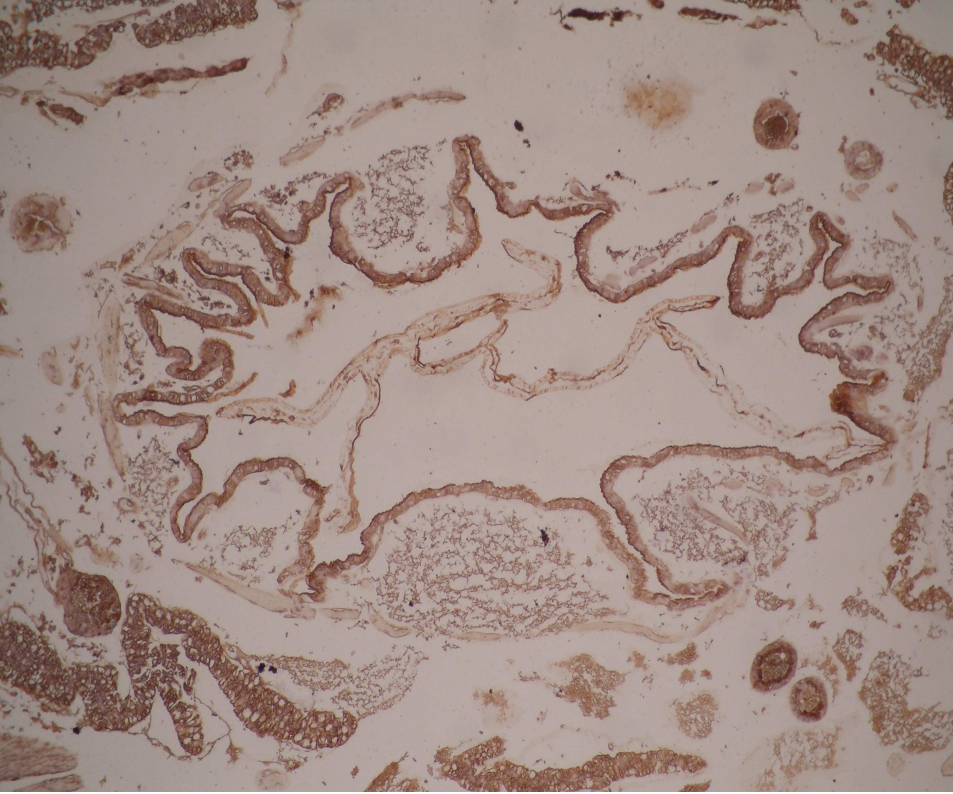


Şekil 4.3 *A.segetum* orta bağırsağındaki silindirik ve goblet hücrelerinin BS-I ile boyanması.

G. Goblet hücre, (→) Apikal zar, L. Lümen, BZ. Bazal zar. X 670.



BS-I lektini larvaların bağırsağındaki peritrofik zarını orta seviyede boyamıştır.  $\alpha$ -D-Galaktoz birimlerinin peritrofik zarda fazla miktarda olmadığı tahmin edilmektedir (Şekil 4.4).

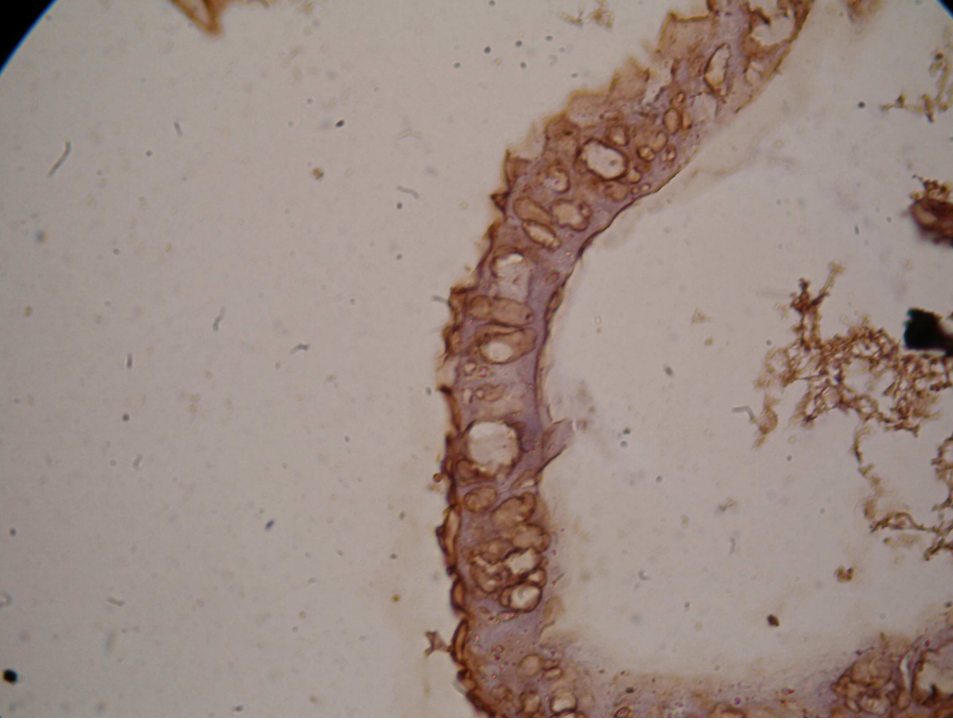


Şekil 4.4 *A.segetum* orta bağırsağıın BS-I ile boyanmış genel görüntüsü.

(→) Peritrofik zar, L. Lümen, ET. Epitel tabakası X67.



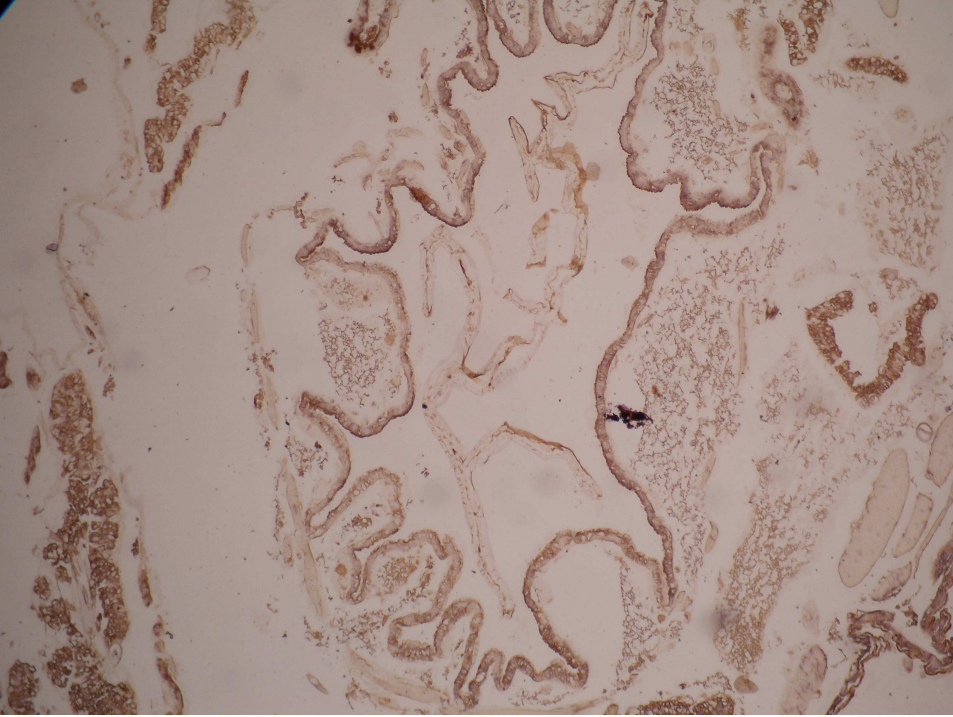
PNA lektini zar reseptörlerinin  $\beta$ -D-Galaktoz-(1 $\rightarrow$ 3)-D-N-Asetil-Galaktozamin birimleriyle bağlanmaktadır. PNA larvaların bağırsaklarındaki apikal hücre zarlarını orta seviyede boyarken, goblet hücrelerinin zarlarının tamamını daha kuvvetli seviyede boyamıştır. Yine bağırsak epitel hücrelerinin bazal zarlara apikal zarlara göre daha az seviyede boyanmıştır. Boyanma göz önünde bulundurulduğu zaman  $\beta$ -D-Galaktoz-(1 $\rightarrow$ 3)-D-N-Asetil-Galaktozamin karbohidrat kompleksinin bağırsak hücrelerinin apikal zarlarında, bazal zarlara göre daha çok bulunduğu tahmin edilmektedir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 *A.segetum* orta bağırsağındaki silindirik ve goblet hücrelerinin PNA ile boyanması.

G. Goblet hücre, (→) Apikal zar, L. Lümen X 670.

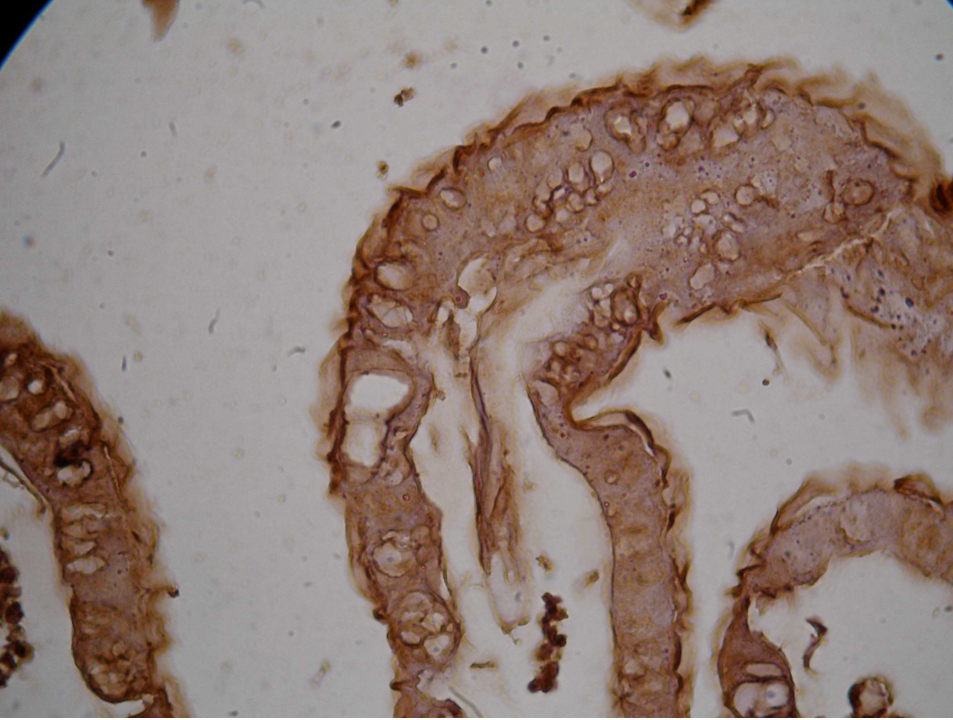
PNA ile yapılan histokimyasal çalışmada larvaların orta bağırsak lümenindeki peritrofik zarın az seviyede boyandığı gözlenmiştir.  $\beta$ -D-Galaktoz-(1→3)-D-N-Asetil-Galaktozamin birimlerinin bağırsaktaki peritrofik zar glikoproteinlerinde pek bulunmadığı öne sürülebilir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 *A.segetum* orta bağırsağının PNA ile boyanmış genel görüntüsü.

(→) Peritrofik zar, L. Lümen, ET.Epitel tabakası X67.

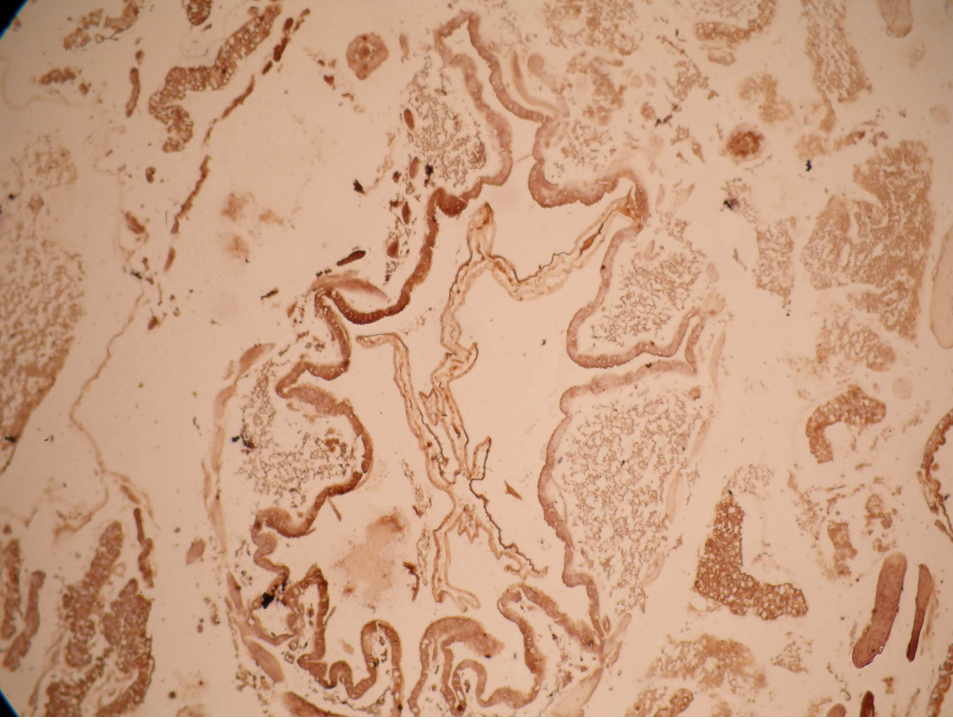
UEA-1 lektini zarlardaki  $\alpha$ -L-Fukoz karbohidrat birimleriyle bağlanmaktadır. UEA-1 lektini epitel hücrelerinin apikal zarlarını orta seviyede boyamıştır. Yine diğer lektin boyamalarında olduğu gibi silindirik hücrelerin apikal zarları kuvvetli boyanırken bazal zarları daha az boyanmıştır. Larvaların bağırsağındaki epitel tabakasında bulunan goblet hücre zarlarının orta seviyede boyandığı gözlenmiştir. Epitel hücrelerinin apikal zarları ile goblet hücre zarlarının  $\alpha$ -L-Fukoz birimlerinin ne az ne de çok miktarda bulundurmadığı tahmin edilmektedir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7 *A.segetum* orta bağırsağındaki silindirik epitel hücre zarları ve goblet hücre zarlarının UEA-1 lektini ile boyanması.

G. Goblet hücre, (→) Apikal zar, L. Lümen X 670.

UEA-1 ile yapılan histokimyasal çalışmada larvaların orta bağırsağındaki peritrofik zarların çoğunlukla orta seviyede boyadığı tespit edilmiştir ve  $\alpha$ -L-Fukoz birimlerinin fazla yoğun olmadığını gösterebilir (Şekil 4.8).

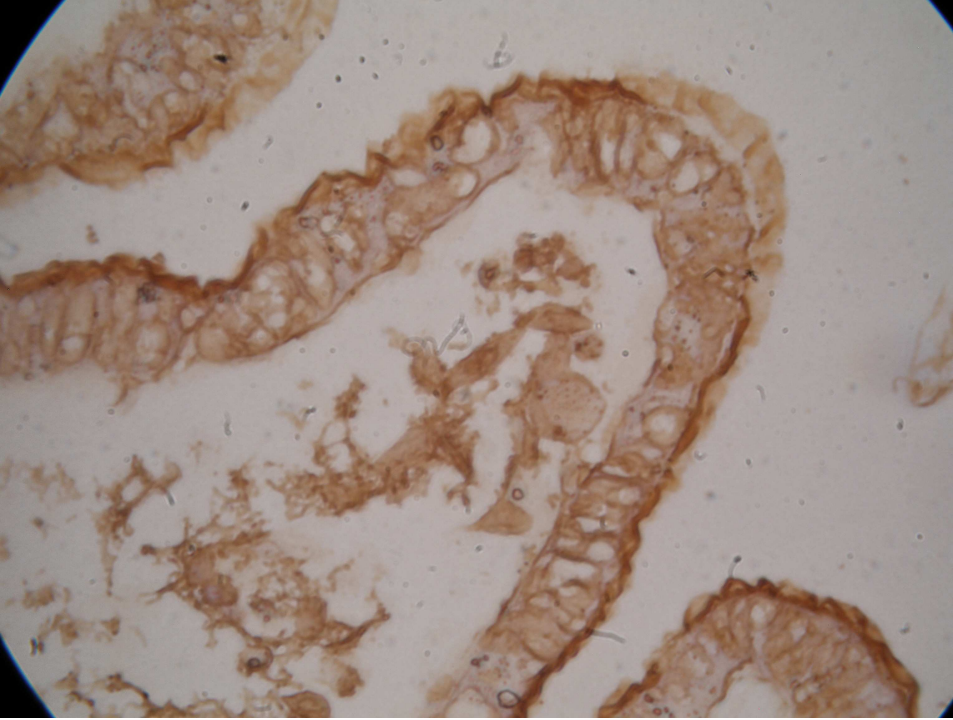


Şekil 4.8 *A.segetum* orta bağırsağının UEA-1 ile boyanmış genel görüntüsü

(→) Peritrofik zar, L. Lümen, ET.Epitel tabakası X67.



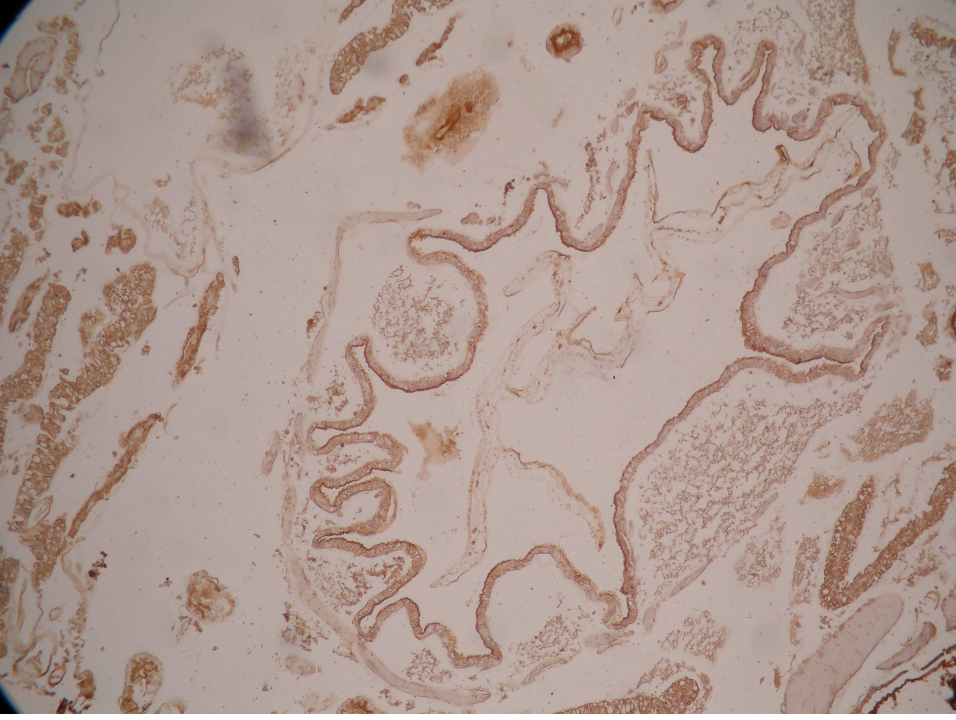
WGA lektininin zar reseptörlerindeki N-Asetil-Glukozamin ve Siyalik Asit'e bağlanma özelliği bulunmaktadır. Yapılan histokimyasal çalışmada WGA lektininin özellikle silindirik epitel hücrelerinin apikal zarlarını az seviyede boyadığı gözlenmiştir. Kullanılan lektinlerden WGA lektini yine diğer lektinler gibi apikal hücre zarlarını boyarken, bazal zarları daha az boyamıştır. Apikal zarlarda N-Asetil-Glukozamin ve Siyalik Asit miktarının bazal zarlara göre daha çok olduğu tahmin edilmektedir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 *A.segetum* orta bağırsağındaki silindirik ve goblet hücrelerinin WGA ile boyanması

G. Goblet hücre, (→) Apikal zar, L. Lümen X 670.

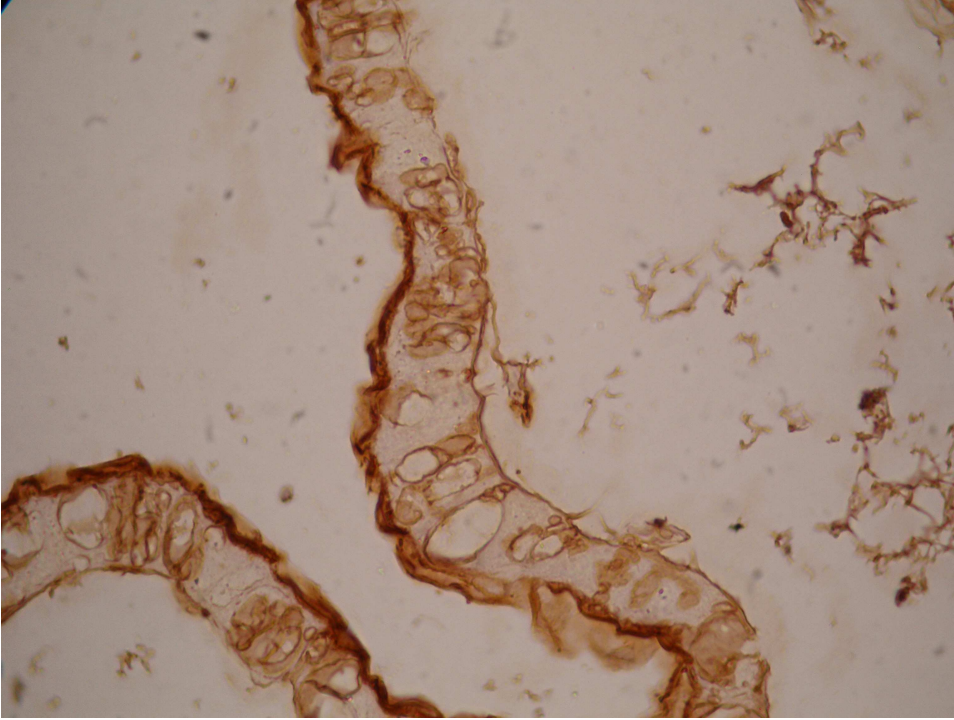
WGA' nın peritrofik zarlarındaki en az şiddette boyadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.10). Bu zarlarda N-Asetil-Glukozamin ve Siyalik Asit miktarının az olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.10 *A.segetum* orta bağırsağının WGA ile boyanmış genel görüntüsü

( → )Peritrofik zar, L. Lümen, ET.Epitel tabakası X67.

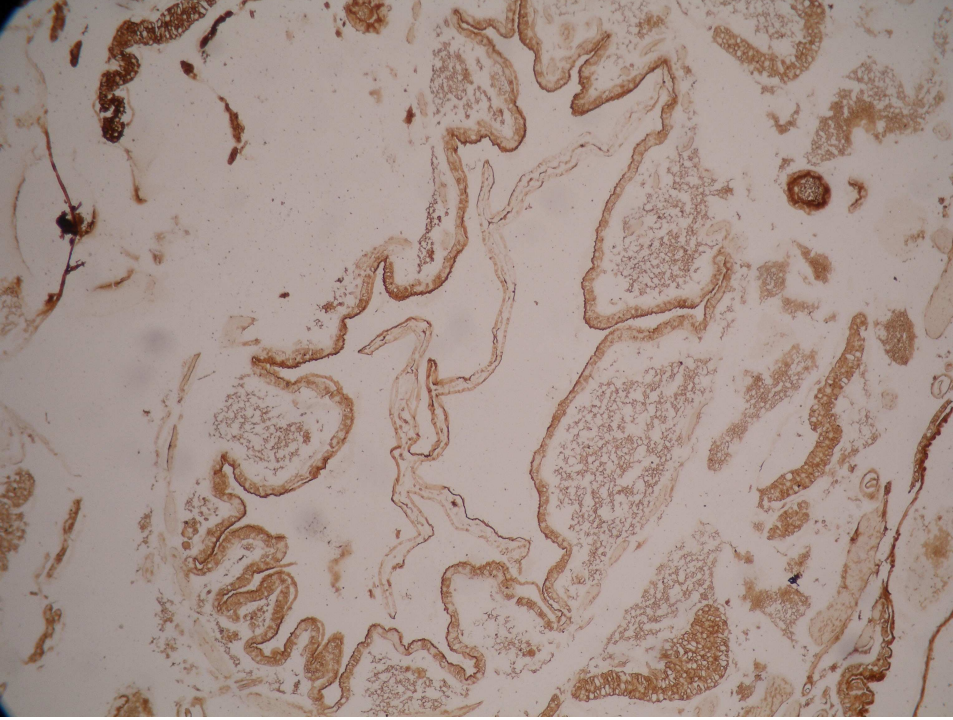
Zarlarda bulunan  $\alpha$ -D-Mannoz ve  $\alpha$ -D-Glukoz karbohidrat birimlerinin Con-A lektini ile bağlandığı bilinmektedir. Con-A lektini epitel hücre zarlarının apikal yüzeyini orta seviyede, bazal hücre zarlarını ise az seviyede boyamıştır. Con-A lektini goblet hücrelerinin zarlarını az seviyede homojen bir şekilde boyamıştır. Bazal hücre zarlarının ve Goblet hücre zarlarının az boyanması bu bölgelerdeki  $\alpha$ -D-Mannoz ve  $\alpha$ -D-Glukoz karbohidrat birimlerinin az miktarda olabileceğini düşündürmektedir.  $\alpha$ -D-Mannoz ve  $\alpha$ -D-Glukoz karbohidrat birimlerinin Apikal hücre zarlarında bazal zarlara göre daha fazla bulunabileceği tahmin edilmektedir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11 *A.segetum* orta bağırsağındaki silindirik ve goblet hücrelerinin Con-A ile boyanması

G. Goblet hücre, (→) Apikal zar, L. Lümen X 670.

Larvaların orta bağırsağındaki peritrofik zarların az seviyede boyandığı gözlenmiştir. Peritrofik zarlarda  $\alpha$ -D-Mannoz ve  $\alpha$ -D-Glukoz karbohidrat birimlerinin az miktarlarda olduğu tahmin edilmektedir(Şekil 4.12).



Şekil 4.12 *A.segetum* orta bağırsağının Con-A ile boyanmış genel görüntüsü

( → ) Peritrofik zar , L. Lümen, ET. Epitel tabakası X67.



Özet olarak BPA ve BS-I lektinleri *A. segetum* 5. evre larvalarının orta bağırsak epitel hücrelerinin apikal zarlarını kuvvetli seviyede boyamıştır, UEA-1, PNA ve Con-A lektinleri larvaların orta bağırsağındaki apikal hücre zarlarını orta seviyede boyamıştır. WGA lektini hücrelerin apikal zarlarını az seviyede boyamıştır. Yapılan tez çalışmasında apikal zarlar, besin alışverişinin yapıldığı bölgeler olması açısından önemlidir. İleride yapılacak olan çalışmalarda böcekle mücadele için diyetine uygulanacak lektininin belirlenmesi çalışma konusu olarak önem kazanmıştır. Çünkü yapılan araştırmalarda besinlere ilave edilmiş lektinlerin apikal zarlara bağlandığı ve böceğin beslenmesini engellediği tespit edilmiştir (Sauvion *et al.* 2004, Evangelista and Leite 2002).

BPA ve BS-I lektinlerinin kuvvetli boyaması dikkate alındığında böcek orta bağırsağındaki hücrelerin apikal zarlarındaki glikoprotein yapısında N-Asetil-D-Galaktozamin , D-Galaktoz ve  $\alpha$ -D-Galaktoz karbohidratlarının bulunabileceği düşünülmektedir. *A. segetum* larvalarına karşı yapılacak olan mücadelede BPA ve BS-I lektinlerinin kullanılması tavsiye edilebilir.

Tez çalışmasının sonunda elde edilen veriler çizelge’de 4.1 özetlenmiştir.

Çizelge 4.1 Kullanılan lektinlerin zarları boyaması.

Lektin adı	Apikal zar	Bazal zar	Peritrofik zar	Goblet hücre zarları
Con-A	++	+	+	+
WGA	+	+	+	+
PNA	++	+	+	++
UEA-I	++	+	++	++
BS-I	+++	++	++	+++
BPA	+++	++	++	+++

\* +++ Kuvvetli seviye, ++ Orta seviye, + Az seviye

## 5. TARTIŞMA

Çeşitli kaynaklardan elde edilen ticari lektinlerle canlılarda meydana gelen bir çok metabolik olaylar ve yapısal özellikler tespit edilmektedir (Helliwell *et al.* 1989, Anadolu vd. 1992, Seyrek ve Bildik 2001, Lis and Sharon 2004, Cermenati *et al.* 2007, George *et al.* 2007).

Tez çalışmasında halk arasında bozkurt olarak bilinen ve gece kelebeği olan *A. segetum* orta bağırsak hücrelerinin zarları ve peritofik zarları lektinle boyanarak histokimyasal yönden incelenmiştir.

Bazı lepidopter türlerinde bağırsak epitel hücre zarlarına WGA ve PNA lektinlerin kuvvetli bağlandığı ve insektisidal etki gösterdiği belirtilmiştir. *A. segetum* larvalarının orta bağırsak apikal hücre zarlarına WGA lektininin zayıf bağlandığı PNA lektinin ise orta seviyede bağlandığı gözlenmiştir. Diğer lepidopter türlerine göre *A. segetum* larvalarında WGA ve PNA lektinlerinin bağlanması farklılık göstermektedir.

Coleopter türlerinde de WGA ve PNA lektinlerinin kuvvetli bağlanma gösterdiği tespit edilmiştir (Czapla *et al.* 1990). Coleopter türlerinin bağırsak hücre zarlarına WGA ve PNA lektinlerini kuvvetli bağlanması, *A. segetum* türünün bağırsak hücre zarlarının WGA ve PNA lektinlerinin zayıf seviyede bağlanması durumu farklı bir durum ortaya koymaktadır.

Sinek türlerinden *Lutzomyia longipalpis* orta bağırsağı Con-A, HPA, PNA ve WGA lektinleri ile boyanmıştır (Evangelista and Leite 2002). Yapılan çalışmada N-Asetil Galaktozamin'e spesifik olan HPA (*Helix Pomatia* Agglutinin) lektininin orta bağırsak hücrelerini ve sitoplazmik salgı granüllerini kuvvetli boyadığı tespit edilmiş ve yapısal bir komponent olarak N-Asetil Galaktoz aminin reseptör moleküldeki terminal şeker olabileceği öne sürülmüştür. Buna karşılık Con-A, PNA ve WGA lektinlerinin bağlanmadığı öne sürülmüştür. *A. segetum* larvalarının orta bağırsağındaki epitel hücrelerinin apikal zarlarına orta seviyede bağlanmıştır. *L. longipalpis* sineğinde olduğu

gibi WGA lektini *A. segetum* larvalarının orta bağırsağındaki apikal hücreleri zayıf seviyede bağlanmıştır.

Evangelista ve Leite ( 2002 ), WGA, Con-A ve PNA lektinlerinin sineğin peritrofik zarlarına bağlanmadığı rapor etmişlerdir. *A. segetum* larvalarında peritrofik zarlara WGA, Con-A ve PNA lektinlerinin zayıf seviyede bağlanması *L. longipalpis* sineği ile benzer durum göstermektedir.

Con-A'nın fıstık aphidi olan *Acyrtosiphon pisum* (Harris) için beslenme inhibitörü olduğu gösterilmiştir. Mannoza spesifik Con-A'nın orta bağırsak hücrelerinin apikal zarlarına kuvvetli seviyede bağlanarak sineğin beslenmesini engellediği gözlenmiştir (Sauvion *et al.* 2004).Fıstık aphidinde orta bağırsak apikal hücre zarlarına Con-A lektini kuvvetli bağlanma göstermesine karşılık *A. segetum* larvalarının orta bağırsak hücrelerine Con-A zayıf bağlanma göstermiştir. Dolayısıyla *A. segetum* larvalarının apikal hücre zarlarında mannozun nadir olarak bulunabileceği düşünülmektedir.

Bir omurgasız türü olan *Sicyonia ingentis* karidesinin peritrofik membranının oluşumu, yapısı ve geçirgenliği WGA lektini ile belirlenmiştir. Peritrofik zarın bağırsak epitel hücrelerinden salgılandığı bildirilmiştir (Martin *et al.* 2006). Karidesin orta bağırsak hücre zarlarına ve peritrofik zarlarına WGA'nın bağlandığı bildirilmiştir. Oysa ki WGA *A. segetum* bağırsak hücre zarlarına ve peritrofik membranına oldukça zayıf bağlanmıştır. Bu zayıf bağlanma *A. segetum* larvalarının hücre zarları ve peritrofik zarında N-Asetil-Glikozamin karbohidratının çok az bulunabileceğini göstermektedir.

*A. segetum* orta bağırsak hücrelerinin apikal yüzeylerinin bazal yüzeylere göre daha kuvvetli boyandığı tespit edilmiştir Zacccone ve arkadaşları (1987) *Ambistoma tirinum* larvalarının epidermis hücrelerini çeşitli lektinlerle boyamışlardır. Araştırmacılara göre epidermis hücrelerinin apikal zarlarına lektinlerin kuvvetli bağlandığı, lateral ve bazal yüzeylerine ise sadece *Ricinus Communis* Agglutinin (RCA-1) lektininin kuvvetli bağlandığını öne sürmüştür. Araştırmacılar hücre yüzey polaritesine bağlı olarak hücrelerin apikal yüzeylerinde nötral kompleks karbohidratların bazal ve lateral

yüzeylerinde ise asidik karbohidratların bulunduğunu bildirmişlerdir. Yapılan tez çalışmasında *A. segetum* larvalarının hücre zarları, *A. tirinum* larvalarının hücre zarlarındaki lektin bağlanmasına benzer bağlanma göstermiştir.

Omurgasızların bağırsak hücre zarlarındaki ve peritrofik zarlarındaki glikoprotein yapısının histokimyasal yönden incelenmesiyle ilgili az sayıda çalışma yapılmıştır. O nedenle çalışma sonuçlarıyla diğer araştırmacıların sonuçlarının karşılaştırılması yeterince yapılamamıştır. Bu konuda yapılacak olan çalışmalara katkısının olacağı düşünülerek, tarım zararlısı *A. segetum* larvalarının bağırsak hücre zarlarının ve peritrofik zarlarının glikoprotein yapısı Avidin-Biotin-Peroksidaz enzim yöntemi kullanılarak lektinlerle boyanmıştır.

## KAYNAKLAR

- Alonson, E., Saez, F.J., Madrid, J.F. and Hernandez, F. 2003. Lectin histochemistry shows fucosylated glycoconjugates in the primordial germ cells of *Xenopus* embryos. *J Histochem & Cytochem* 51(2):239-243.
- Amanai, K., Sakai, M., Sakurai, S., Mori, T., Nikaido, O. and Ohtaki, T. 1991. Occurrence of lectin in the silk gland of the silkworm, *Bombyx mori*. *Develop. Growth & Differ.*, 33 (4), 421-427.
- Anadolu, R., Erdem, C., Erdi, H., and Taşpınar, A. 1992. Skuamöz hücreli karsinoma tanısında peanut agglutinin. *Türk J Dermatopathol* 1: 46-50.
- Andriés, J.C. and Tramu, G. 1985. Ultrastructural and immuohistochemical study of endocrine cells in the midgut of the cockroach *Blaberus craniifer* (Insecta, Dictyoptera). *Cell Tissue Res.* 240: 323-332.
- Anonymous. 2008 yılı web sitesi: [www.aftabaran.blogfa.com](http://www.aftabaran.blogfa.com), Erişim Tarihi: 10/05/2008
- Anonymous. 2008 yılı web sitesi: [www.inra.fr](http://www.inra.fr), Erişim Tarihi: 10/05/2008
- Anonymous. 2008 yılı web sitesi: [www.kkgm.gov.tr](http://www.kkgm.gov.tr), Erişim Tarihi: 10/05/2008
- Anonymous. 2008 yılı web sitesi: [www.togem.gov.tr](http://www.togem.gov.tr), Erişim Tarihi: 10/05/2008
- Barbeta, B.L., Marshal, A.T., Gillon, A., Craik, D.J. and Anderson, A.M. 2007. Plant cyclotides disrupt epithelial cells in the midgut of lepidopteran larva. *PNAS* vol.105, no.105, 1221-1225.
- Bandyopadhyay, S., Roy, A. and Das, S. 2001. Binding of garlic (*Allium sativum*) leaf lectin to the gut receptors of homopteran pests is correlated to its insecticidal activity. *Plant science* 161, 1025-1033.
- Basu, D., Nair, J.V. and Appukuttan, P.S. 1987. Oligosaccharide structure determination of glycoconjugates using lectins. *J. Biosci.*, Vol.11, Numbers 1-4, pp. 41-46.

- Cermenati, G., Corti, P., Caccia, S., Giordana, B. and Casartelli, M. 2007. A morphological and functional characterization of *Bombyx mori* larval midgut cells in culture. ISJ 4: 119-126.
- Czapla, T.H. and Lang, B.A. 1990. Effect of plant lectins on the larval development of European Corn Borer (Lepidoptera: Pyralidae) and Southern Corn Rootworm (Coleoptera:Chrysomelidae). J of Eco Entomol. 83:2480-2485.
- Danguy, A. and Genten, F. 1990. Lectin histochemistry on glycoconjugates of the epidermis and dermal glands of *Xenopus laevis* (Daudin, 1802). Acta Zool (Stocholm) 71 (1): 17-24
- Dutta, I., Majumder, P., Saha, P., Ray, K. and Das, S. 2005. Constitutive and phloem specific expression of *Allium sativum* leaf agglutinin (ASAL) to engineer aphid (*Lipaphis erysimi*) resistance in transgenic Indian mustard (*Brassica juncea*). Plant Science 169, 996-1007.
- Elvin, M.C., Vuocolo, T., Pearson, R.D., East, I.J. and Riding, A.G. 1996. Characterization of a major peritrophic membrane protein, peritrophin-44, from the larvae of *Lucilia cuprina*. The journal of biological chemistry, vol. 271, No. 15. pp. 8925-8935.
- Erinç, M. 1996. *Bacillus thuringiensis* ve bazı kimyasal insektisitlerin *Agrotis segetum* (Dennis et. Schiff.) (Lepidoptera: Noctuidae) larvalarına etkileri. A.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Doktora Tezi (Yayınlanmamış, Ankara).
- Estada, U. and Ferre, J. 1994. Binding of insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis* to the midgut brush border of the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), and selection for resistance to one of the crystal proteins. Applied and Environmental Microbiology, p. 3840-3846.
- Evangelista, L.G. and Leite, A.C.R. 2002. Histochemical localization of N- Acetyl-Galactosamine in the midgut of *Lutzomyia Longipalpis* (Diptera: Psychodidae). J. Med. Entomol. 39(3): 432-439.
- Franklin, A. 1935 . Principles of insect morphology. Mc GRAW-HILL book company, ING, New York and London .

- Gabius, H.J. 1997 . Animal lectins. Eur. J. Biochem. 243: 543-576.
- George, S., Oh, Y., Lindblom, S., Vilain, S., Rosa, A.J.M., Francis, D.H., Brözel, V.S. and Kaushik, R.S. 2007 . Lectin binding profile of the small intestine of five-week old pigs in response to the use of chlortetracycline as a growth promotant and under gnotobiotic conditions. J. Anim. Sci. 85:1640-1650.
- Gheri, G., Bryk, S.G., Riccardi, R., Sgambati, E., Borghi, M.B.C. 2002 . The glycoconjugate sugar residues of the sessile and motile cells in the thymus of normal and Cyclosporin-A-treated rats:lectin histochemistry. Histol and Histopathol, 17(1):9-19.
- Gül, N. and Ayvalı, C. 1995 *Agrotis segetum*'da (Dennis and Schiffermüller) (*Lepidoptera* : Noctuidae) hücresel bağıışıklık Tr. J. Biol., 19, 259-268.
- Gül, N., Sayar, H., Özsoy, N. and Ayvalı, C. 2001 A study on endocrine cells in the midgut of *Agrotis segetum* (Dennis and Schiffermüller) (*Lepidoptera* : Noctuidae) Tr. J. of Zoology , 25(3):193-197.
- Gül, N., Cebesoy, S. and Özsoy, N. 2008 . Lectins binding during alloxan-induced diabetes in rat soleus muscle". African J. Biotechn. 7(8):926-930.
- Harper, S.M., Crenshaw, R.W., Mullins, M.A. and Privalli, L.S. 1995. Lectin binding to insect brush border membranes. J Eco Entomol 88:1197-1202.
- Hedemann, M.S., Hojsgaard, S. and Jensen, B.B. 2007 . Lectin histochemical characterisation of the porcine small intestine around weaning. Research in Veterinary Science 82. 257-262.
- Helliwell, T.R., Gunhan, O. and Edwards, R.H.T. 1989 . Lectin binding and desmin expression during necrosis, regeneration, and neurogenic atrophy of human skeletal muscle. Journal of pathology, vol. 159: 43-51.
- Huber, M., Cabib, E. and Miller, H. 1990 . Malaria parasite chitinase and penetration of the mosquito peritrophic membrane. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 88, pp. 2807-2810.

- Junquera, L.C., Carneiro, J. and Kelley, R.O. 1998. Basic Histology (9 th edn). McGraw-Hill Publishing Co.1-494.
- Kaya, N. 1979. Ege Bölgesinde Patateslerde Zarar Yapan *Agrotis* Türleri (Lepidoptera: Nactuidae), Tanınmaları, Yayılışları, Zarar Şekli ve Dereceleri, Kısa Biyolojileri Üzerinde Araştırmalar. İzmir Bölge Ziraî Mücadale Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Araştırma Eserleri Serisi No:33 s. 1-78, Ankara.
- Lever, G.S., Alory, J., Ucci, A. and Lever, W.F. 1984 . Distribution of carbohydrate residues in normal skin. Arch Dermatol Res 276: 216-223.
- Levy, S.M., Falleiros, M.F.A., Moscardi, F., Gregorio, E.A. and Toledo, L. 2004 a. Morphological study of the hindgut in larvea of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). Neotropical Entomology 33(4): 427-431
- Levy, S.M., Falleiros, M.F.A., Moscardi, F., Gregorio, E.A. and Toledo, L. 2004 b . The larval midgut of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): Light and electron microscopy studies of the epithelial cells. Braz. J. Biol., 64(3B): 633-638.
- Lis, H. and Sharon, N. 1986 . Lectins as molecules and as tools. Ann Rev Biochem 55: 35-67.
- Lis, H. and Sharon, N. 2004. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. Glycobiology vol. 14 no. 11 pp. 53R .
- Martin, G.G., Simox, R., Nguyen, A. and Chilingaryan, A. 2006 . Peritrophic membrane of the penaeid shrimp *Sicyonia ingentis* : Structure, formation and permeability. Biol. Bull. 211: 275-285.
- Martoja, R. and Ballan, C. 1984. The ultrastructure of the digestive and excetory organs. In Insect Ultrastructure. Ed. by R.C. King and H. Akai. Vol 2. Plenum Press. New York and London. pp. 199-268.
- Mc Kenzi, A.N.J. and Preston, T.M. 1992. Biological characteristics of the *Calliphora vomitoria* agglutinin. Dev Comp Immunol 16: 85-93.



- Miyazawa, M., Kimura, T. and Itagaki, S. 1994. Lectin histochemistry on the skin of hairless descendants of Mexican hairless dogs. *Tissue and Cell* 26 (1): 19-27.
- Murdock, L.L., Huesing, J.E., Nielsin, S.S., Pratt, R.C. and Shade, R.E. 1990 . Biological effects of plant lectins on the cowpea weevil. *Phytochem* 29 (1): 85-89.
- Pendland, J.C., Health, M.A. and Boucias, D.G. 1988. Function of a galactose-binding lectin from *Spodoptera exigua* larval haemolymph: opsonization of blastospore from entomogenous hyphomycetes. *J. Insect Physiol.* 34 (6): 533-540.
- Rhodes, J.M. and Milton, J.D. 1998. Lectin methods and protocols. Human Press. Inc.
- Rüdger, H. 1997. Structure and functions of plant lectins, in glicosciences status and perspectives (Gabius, H.J. and Gabius, S., eds) pp.415-439, Chapman & Hall, Weinheim.
- Sauvion, N., Nardon, C., Febvay, G., Gatehouse, A.M.R. and Rahbe, Y. 2004. Binding of the insecticidal lectin ConcanavalinA in pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*(Harris)and induce effect on the structure of midgut epithelial cells. *J Insect Physiol* 50: 1137-1150.
- Schaumburg-Lever, G., Alroy J., Ucci, A. and Lever, W. F.1984 . Distribution of carbohydrate residues in normal skin. *Arch Dermatol Res* 276:216-223.
- Seyrek, K. ve Bildik, A . 2001 . Lektinler. *YYÜ. Vet. Fak. Derg.* 12 (1-2): 96-100.
- Sharon, N. 1977. Lectins. *Sci Amer* 236 (6): 108-119.
- Singh, T., June, H. W.U., Peumans, W.J., Rougé, P., Van Damme, J.M., Alvarez, R.A. and Blixt, O. 2006. Carbohydrate specificity of an insecticidal lectin isolated from the leaves of *Glechoma hederacea* (ground ivy) towards mammalian glycoconjugates. *Biochem. J.* 393, 331-341.
- Stoddart, R.W. and Jones, C.J.P. 1998. Lectin histochemistry and cytochemistry –light microscopy. Avidin-biotin amplification on resin-embedded sections. In Rhodes JM, Milton JD, eds. *Methods in Molecular Medicine Vol. 9. Lectin Methods and Protocols.* Totowa, NJ, Humana Press, 21-39.

- Sutherland, P.W., Burgess, E.P.J., Philip, B.A., McManus, M.T., Watson, L. and Christeller, J.T. 2002 . Ultrastructure changes to the midgut of black field cricket (*Teleogryllus commodus*) following ingestion of potato protease inhibitor II. *Journal of Insect Physiology* 48. 327-336.
- Thöm, I., Schult-Kronefeld, O., Burkholder, I., Goern, M., Andrizky, B., Blonski, K., Kulger, C., Elder, L., Bokemeyer, C., Schumacher, U. and Laack, E. 2007 . *Lung cancer* 56, 391-397.
- Van Damme, E.J.M., Allen, A.K. and Peumans, W.J. 1988 . Related mannose-specific lectins from different species of the family Amaryllidaceae. *Physiologia Plantarum* 73, 52-57.
- Vierbuchen, M. 1991. Lectin receptors. In *Current Topics in Pathology*. (Ed. Seifert, G.) 83: 1-522. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona.
- Wakitani, S., Hondo, E., Shimokawa, T., Kusakabe, K., Okada, T., Nakamuta, N., Stewart, C.L. and Kiso, Y. 2008 . Effects of leukemia inhibitory factor on lectin-binding patterns in the uterine stromal vessels of mice. *Immunobiology* 213. 143-150.
- Yıkılmaz, M. S. and Deveci, Ö. 2004 . Structure of midgut and peritrophic matrix in the last instar larva of *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae). *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi* 17 (2): 9-19.
- Zaccone, G., Fasula, S., Locascio, P., Licata, A., Ainis, L. and Affronte, R. 1987. Lectin-binding pattern on the surface epidermis of *Ambystoma tigrinum* larvae. *Histochem* 87:431-438.
- Zhu, K., Huesing, E.J., Shade, R.E., Bressan, R. A., Hasegawa, M.P. and Murdock, L.L. 1996. An insecticidal N-Acetylglucosamine-specific lectin gene from *Griffonia simplicifolia* (Leguminosae). *Plant Physiol*, 110:195-202.
- Zitnan, D., Saman, I. and Sehnal, F. 1993. Peptidergic innervation endocrine. Cells of insect midgut. *Arch. Insect Bioch. Physiol* . 22: 113-132.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Naznoosh SHOMALİ MOGHADDAM

Doğum Yeri : İran- Tebriz

Doğum Tarihi : 21/03/1981

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Sema lisesi (1999)

Lisans : Tebriz Üniversitesi (2003)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı (Eylül 2006-Temmuz 2008)