

Agrotis segetum'da (Dennis ve
Schiffmüller) (Lepidoptera :
Noctuidae) HÜCRESEL BAĞIŞIKLIK
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

NURSEL GÜL

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

1990
ANKARA

1962

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Agrotis segetum'da (Dennis ve Schiffermüller)

(*Lepidoptera : Noctuidae*)

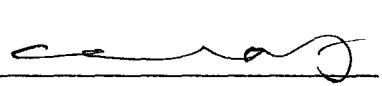
HÜCRESEL BAĞIŞIKLIK ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

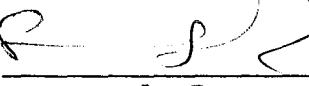
Nursel GÜL

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

W. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

Bu tez 4/5/1962 tarihinde aşağıdaki juri tarafından ... (.95...)
not takdir edilerek oybirliği/oyekliliği ile kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Cevat Ayvalı
Danışman


Prof. Dr.
Sevinç Karol


Prof. Dr.
Yaşar Aksoylar



Ö Z E T**Yüksek Lisans Tezi*****Agrotis segetum*'da (Dennis ve Schiffermüller)****(Lepidoptera : Noctuidae)****HÜCRESSEL BAĞIŞIKLIK ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR****Nursel GÜL**

Ankara Üniversitesi
 Fen Bilimleri Enstitüsü
 Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Prof.Dr. Cevat AYVALI
 1990, Sayfa: 36

Jüri: Prof.Dr. Cevat AYVALI
 Prof.Dr. Sevinç KAROL
 Prof.Dr. Yaşar AKSOYLAR

Agrotis segetum larvaların, enjekte edilen *Bacillus thuringiensis* subsp. *berliner* suşuna karşı hücresel bağışıklık reaksiyonu gözlenmiştir. Larvalara 5.7×10^4 hücre/ml ve 1.9×10^4 hücre/ml bakteri solusyonlarından 5 μl enjekte edilmiştir. Larvalarda bakteri dozları enjekte edildikten 10,30,60 ve 120 dakika sonra nodül oluşumu gözlenmiş, total ve differansiyel hemosit sayımı yapılmıştır. Normal larvalara göre parazitli larvalarda differansiyel ve total hemosit sayısında artış gözlenmiştir. Larvalara enjekte edilen 5.7×10^4 bakteri dozuna karşı büyük nodüller, 1.9×10^4 bakteri dozuna karşı küçük nodüller meydana gelmiştir. Ayrıca 5.7×10^4 bakteri dozu enjekte edilen larvalardaki total ve differansiyel hemosit sayısı, 1.9×10^4 bakteri dozu enjekte edilen larvalardaki total ve differansiyel hemosit sayısına göre daha az bulunmuştur. Total ve differansiyel hemosit sayısındaki azalma, larvalarda meydana gelen büyük nodüllerde hemositlerin daha fazla miktarda toplamasından olabilir. Parazitli larvalarda plazmotosit ve granulosit sayılarında artış görülmüştür. Bu hücrelerin sayılarının artmış olması, bunların yabancı materyale karşı daha aktif bir hücresel faaliyet gösterdiklerini ortaya koymaktadır.

ANAHTAR KELİMELER: *Agrotis segetum*, *Bacillus thuringiensis* subsp. *berliner*, nodül, hücresel bağışıklık, total ve differansiyel hemosit sayısı.

A B S T R A C T**Masters Thesis**

**STUDIES ON THE CELLULAR DEFENSE REACTIONS IN
Agrotis segetum (Dennis and Schiffermiller)
 (Lepidoptera: Noctuidae)**

Nursel GÜL

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

Supervisor : Prof.Dr. Cevat AYVALI
 1990, Page: 36

Jury : Prof.Dr. Cevat AYVALI
 Prof.Dr. Sevinç KAROL
 Prof.Dr. Yaşar AKSOYLAR

The cellular defense reactions of hemocytes were observed in *Agrotis segetum* larvae after the injection of *Bacillus thuringiensis* subsp.*berliner*. Each larva was injected 5 μ l bacteria solution which were prepared in two different cell concentration: 5.7×10^4 cells/ml and 1.9×10^4 cells/ml. The nodule formation was observed and total (THCs) and differential hemocyte counts (DHCs) were made 10, 30, 60 and 120 minutes after the injections. THCs and DHCs in parasitized larvae were found higher than in non-parasitized ones. The large nodules were formed in larvae injected with high concentrated bacteria (5.7×10^4) and small nodules in low concentrated ones. THCs and DHCs in the larvae injected with the low concentrated solution were found less in number than the larvae injected with the high concentrated solution. The reason of the decrease in THCs and DHCs counts was the accumulations of the hemocytes in these large nodules. In the parasitized larvae, the number of the plasmacytocytes and granulocytes were increased. The high number of the cells clearly shows that they are more active against foreign material, in their cellular defense reaction.

KEY WORDS: Hemocyte, *Agrotis segetum*, *Bacillus thuringiensis* subsp. *berliner*, the cellular defense reaction, nodule formation, total hemocyte count, differential hemocyte count.

T E S E K K Ü R

Tez çalışmam süresince bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, bana yol gösteren A.Ü.Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Hocam Prof.Dr. Cevat AYVALI'ya, A.Ü.Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyelerinden Sayın Yard.Doç.Dr. Hakkı SAYAR'a ve çalışmalarımız sırasında *A.segetum* kültürümüzü devamlı destekleyen Şeker Şirketi Araştırma Enstitüsü Biyologlarından Sayın Mustafa ERİNÇ'e tekrar teşekkürlerimi sunmayı bir borç biliyorum.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
1. GİRİŞ	1
2. MATERİYAL VE METOT	4
3. SONUÇLAR	6
3.1. Nodül Oluşumu	6
3.2. Çeşitli Bakteri Dozlarında <i>A. segetum</i> 'da Nodül Oluşumu	7
3.3. Normal ve Parazitli Larvalarda Total Hemosit Sayımı	12
3.4. Normal ve Parazitli Larvalarda Differansiyel Hemosit Sayımı	14
4. TARTIŞMA	32
KAYNAKLAR	34

GİRİŞ

Halk arasında bozkurt veya toprak kurdu olarak bilinen ve polifaj bir böcek olan *Agrotis segetum* Türkiye'de ve dünyada özellikle şeker pancarı, pamuk, patates ve diğer kültür bitkilerine önemli miktarda zarar vermektedir. Holometabol olan *A. segetum* bireyleri larva döneminin ilk üç evresinde bitki yapraklarını, 3. evreden sonra (4., 5., 6., evre) bitkinin toprak altındaki yapılarını yiyecek zararlı olmaktadır. Bu nedenle her yıl çeşitli metodlarla mücadele yapılmaktadır.

Böceklere karşı gerek insektisit, gerekse biyolojik ajan kullanılarak yapılan mücadelede belli dozlara karşı daima dayanıklılık gösterdikleri gözlenmiştir. (Götz ve Vey, 1974; Rockstein, 1978; Ratcliffe ve Walters, 1983; Zachary ve Hoffmann, 1984; Lackie vd., 1985). Örneğin böceklerden özellikle *Lepidopter*'lerde bulunan detoksifikant enzimler insektisitlerin yapısını bozarak, insektisiti böceklerle karşı etkisiz hale getirmektedir (Rockstein, 1978). Ayrıca hemositlerinde bulunan non-spesifik esterazların paration detoksifikasyonuna neden olduğu ve böylece insektisitin etkisiz hale geldiği gözlenmiştir (Patton, 1961). Klordan insektisitinin *Periplaneta americana* karşı kullanılmasından sonra hemositlerin differensiyal ve total sayısında artış olduğu ve insektisitin etkisiz hale geldiği açıklanmıştır (Gupta ve Sutherland, 1968). Antibakteriyel enzim olarak bilinen lizozimin böcek kan hücreleri tarafından salınarak bakteriyi etkisiz hale getirdiği de bilinmektedir (Zachary ve Hoffmann, 1984).

Böceklerin kan hücrelerinde bulunan profenoloksidaz enzim sisteminin bir enzim tarafından yabancı objenin varlığında uyarılması sonucu hücresel bağışıklık kazanması da önemlidir. Ashida ve Dohke (1980), *Bombyx mori*'de serin proteaz enziminin profenoloksidaz enzim sistemini uyarması sonucu bağışıklık reaksiyonunun başladığını ileri sürmüştür. Brookman ve arkadaşları (1988), *Galleria mellonella* larvalarında laminarin denilen β -1.3 glukan enziminin profenoloksidaz enzim sistemini uyardığı ve hücresel bağışıklık reaksiyonunun başladığını gözlemiştir.

Böceklerdeki kan hücreleri, patojenlere ve parazitlere karşı hücresel ve humoral bağışıklık reaksiyonu vermektedirler (Ratcliffe ve Rowley, 1979; Rowley ve Ratcliffe 1981). Kan hücreleri, bakteri ve bira mayası gibi yabancı objeleri eğer az sayıda ise fagositoz yoluyla, çok sayıda ise nodül oluşturarak yok etmektedirler (Ratcliffe ve Walters, 1983). Böcekler parazitlerin yumurtalarına ve larvalarına, nematod ve abiyotik partiküllere karşı kapsül meydana getirerek hücresel bağışıklık reaksiyonu göstermektedirler (Vinson, 1971; George vd., 1971; Schmit ve Ratcliffe, 1978; Stoltz ve Guzo, 1986; Davies vd., 1987). Ürnegin, Vinson (1971) *Cardiochiles nigriceps* parazitinin *Heliothis virescens* larvalarını parazitlediği zaman konaktaki kan hücreleri tarafından kapsül meydana getirildiğini gözlemiştir. *Culex pipiens* larvalarının hemosöltüne bir nematod türü olan *Neoaplectana carpocapsae* (Weiser) 3. evre juvenil larvası enjekte edildiği zaman nematod etrafında kapsül oluştugu gözlemlenmiştir (George vd., 1971). Mantarlara karşı *Chironomus* larvalarının hücresel bağışıklık reaksiyonu verdiği araştırılmıştır. *Chironomus* larvalarına *Aspergillus niger* ve *Mucor hiemalis* mantar sporları enjekte edildiğinde kan hücrelerinin kapsül meydana getirerek mantarları yok ettiği gözlenmiştir (Götz ve Vey, 1974). *Clitumnus extradentatus* larvalarına, Araldite partikülleri enjekte edildikten belli bir süre sonra etraflarında kan hücreleri tarafından kapsül meydana getirildiği gözlemlenmiştir (Schmit ve Ratcliffe, 1978). Lackie ve arkadaşları (1985), *P.americana* (Dictyoptera) ve *Schistocerca gregaria* (Orthoptera)'nın ergin erkek bireylerine abiyotik bir partikül olan ^3H -İnül in aşılamışlar ve böceklerin ^3H -İnül'in kapsüllemek suretiyle yok ettiklerini gözlemişlerdir. *G. mellonella* larvalarına *Bacillus cereus* ve *Escherichia coli* bakterileri ayrı ayrı enjekte edilmiş ve bakterilerin etrafında kan hücrelerinin nodül meydana getirdiği gözlemlenmiştir (Ratcliffe ve Walters 1983). Patojen olmayan *E.coli* bakterisinin dozu arttırıldığı halde ölüm olayının görülmemiği, ancak patojen olan *B.cereus* bakterisinin dozu arttırıldıkça ölüm olayının da arttığı açıklanmıştır.

Parazitle birlikte bazı etkenler kullanıldığı zaman, konakçı böceği kan hücrelerinin aktivitesinin baskı altına alındığı da araştırmacılar tarafından açıklanmıştır. Örneğin *Malacosoma disstria* larvalarına *Hyposoter fugitivus* parazitin yumurtaları enjekte edildiğinde normal olarak kapsül oluştugu ve yumurtaların tahrip edildiği görülmüştür (Stoltz ve Guzo, 1986). Parazit yumurtaları ile birlikte parazitin ovaryumundan izole edilen polydnavirüs enjekte edildiği zaman, konakçının yumurtaları kapsülleme yeteneğinin baskı altına alındığı da aynı araştırmacılar tarafından gözlenmiştir. *H. virescens* larvalarına *Campoletis sonorensis* parazitin yumurtaları enjekte edildikten bir süre sonra kan hücrelerinin kapsül meydana getirdiği gözlenmiştir (Davies vd., 1987). Enjeksiyondan önce yaban arısının kaliks sıvısından izole edilen virus enjekte edildiği zaman kan hücrelerinin parazit yumurtalarını kapsülleyemediği de gözlenmiştir. *Orgyia leucostigma* (*Lepidoptera*) larvalarına *H. fugitivus* yumurtaları ve Sephadex tanecikleri gibi objeler asılandığı zaman kan hücrelerinin kapsül oluşturdukları gözlenmiştir (Guzo ve Stoltz, 1987). Aynı araştırmacılar *O. leucostigma* larvalarına *Cotesia melanoscela* yaban arısının yumurtalarını parazitlediklerinde, yaban arısındaki kaliks sıvısından dolayı konakçının nodül ve kapsül yeteneğinin baskılandığını da gözlemişlerdir.

Bu gözlemlerin ışığında zararlı böceklerin hücresel bağışıklık reaksiyonlarının baskı altına alınmasıyla böceği direncinin kırılacağı mümkün gibi görülmektedir. Daha önce yapılan bu gözlemlere dayanarak *A. segetum* larvalarının böcekler için patojen olduğu bilinen *Bacillus thuringiensis* suşuna (Aronson vd., 1986) karşı verecekleri hücresel bağışıklık reaksiyonunun ne olacağı araştırılacaktır.

2. M A T E R Y A L V E M E T O T

Bu çalışmada kullanılan *A. segetum* bireyleri Etimesgut Şeker fabrikasından temin edilmiştir. Laboratuvarımızda da *A. segetum* larvalarına şeker pancarının (*Beta vulgaris* var. *rapa*) taze yaprakları ve yumru kökleri, kelebeklerine ise % 10'luk bal çözeltisi verilerek beslenmiştir. *A. segetum* bireyleri $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de, % 60-65 nem oranında ve 14 saat gündüz - 12 saat gece fotoperiod uygulanan laboratuvar şartları altında yetiştirilmiştir.

Deneyclerde *A. segetum* larvalarının yalnızca 3., 4., 5., 6. evreleri kullanılmıştır. Larvada dolaşan kan hücrelerinin bakterilere karşı hücresel reaksiyon vermeleri gözlemmeye çalışılmıştır. Hemolenfin incelenmesinde faz-kontrast mikroskopu kullanılmıştır.

Hemolenf, parazitli ve normal olarak kullanılan larvaların 1. abdomen bacağından uzun bir toplu iğne ile delinerek alınmıştır. Alınan hemolenfin total ve differensiyel hemosit sayımı yapılmıştır. Bunun için Neubauer lamı kullanılmıştır. Neubauer lamında yapılan sayımlardan elde edilen değerler Jones'un (1962) verdiği aşağıda gösterilen formule uygulanmıştır.

$$\frac{\text{Sayılan Hücre } \times \text{ Sulandırma } \times \text{ Derinlik}}{\text{Sayısı } \quad \quad \quad \text{Faktörü} \quad \quad \quad \text{Faktörü}} \\ 1 \text{ mm}^3 \text{deki total veya differensiyel hemosit sayısı} = \frac{\text{Sayımı yapılan toplam küçük kare sayısı}}{\text{Sayımı yapılan toplam küçük kare sayısı}}$$

Formülden elde edilen rakamlar larvaların evrelerine ve parazitlenme sürelerine göre değerlendirilmiştir. Total hemosit sayımında normal larvaların her evresi erken, orta ve geç safhaları durumuna göre ayrılarak, her safhadan 10'ar sayım yapılmıştır. Parazitli larvalarda da aynı şekilde erken, orta ve geç safhaların seçimi yapılarak, her parazitli safhadan 5'er sayım yapılmıştır. Sadece 3. evre erken safhadaki parazitli larvalardan hemolenf örnekleri alınamamıştır. Bu larvalarda hemolenf miktarı az olduğu için enjeksiyon sırasında dışarı akmiş dolayısıyla enjeksiyondan sonraki sürelerde hemolenf örneği alınamamıştır.

Larvalardaki hücresel bağışıklığı gözlemek için A.Ü. Ziraat Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümünden temin edilen *Bacillus thuringiensis* subsp. *berliner* suyu kullanılmıştır. Bu bakteri suyu Nutrient Broth sıvı besi yerine alınmış 32°C'de 48 saat inkübatörde üremeye bırakılmıştır. Bakteriler log fazında iken larvaların 2. dorsal segmentine enjekte edilmiştir (Götz vd., 1987). Bakteriler larvalara enjekte edilmeden önce Lepidopterler için hazırlanan fizyolojik tuz çözeltisi (Huddart, 1971) ile 1/2 ve 1/5 oranlarında süspansedilmiştir. Bu süspansiyonlardaki bakteri sayımı yine Neubauer lamı kullanılarak yapılmıştır. 1/2 oranındaki bakteri süspansiyonun 1 ml'de *B. thuringiensis* subsp. *berliner* için 5.7×10^4 , 1/5 oranındaki bakteri süspansiyonun 1 ml'de *B. thuringiensis* subsp. *berliner* için 1.9×10^4 bakteri bulunacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan bu süspansiyonlar Hamilton enjektörü ile her larvaya 5 μl enjekte edilmiştir (Walters ve Ratcliffe 1983). 10, 30, 60 ve 120 dakikalık bakteri enfeksiyonundan sonra larvalardan hemolenf örnekleri alınmış ve mikroskopta inceleme yapılmıştır.

3. S O N U Ç L A R

3.1. Nodül Oluşumu

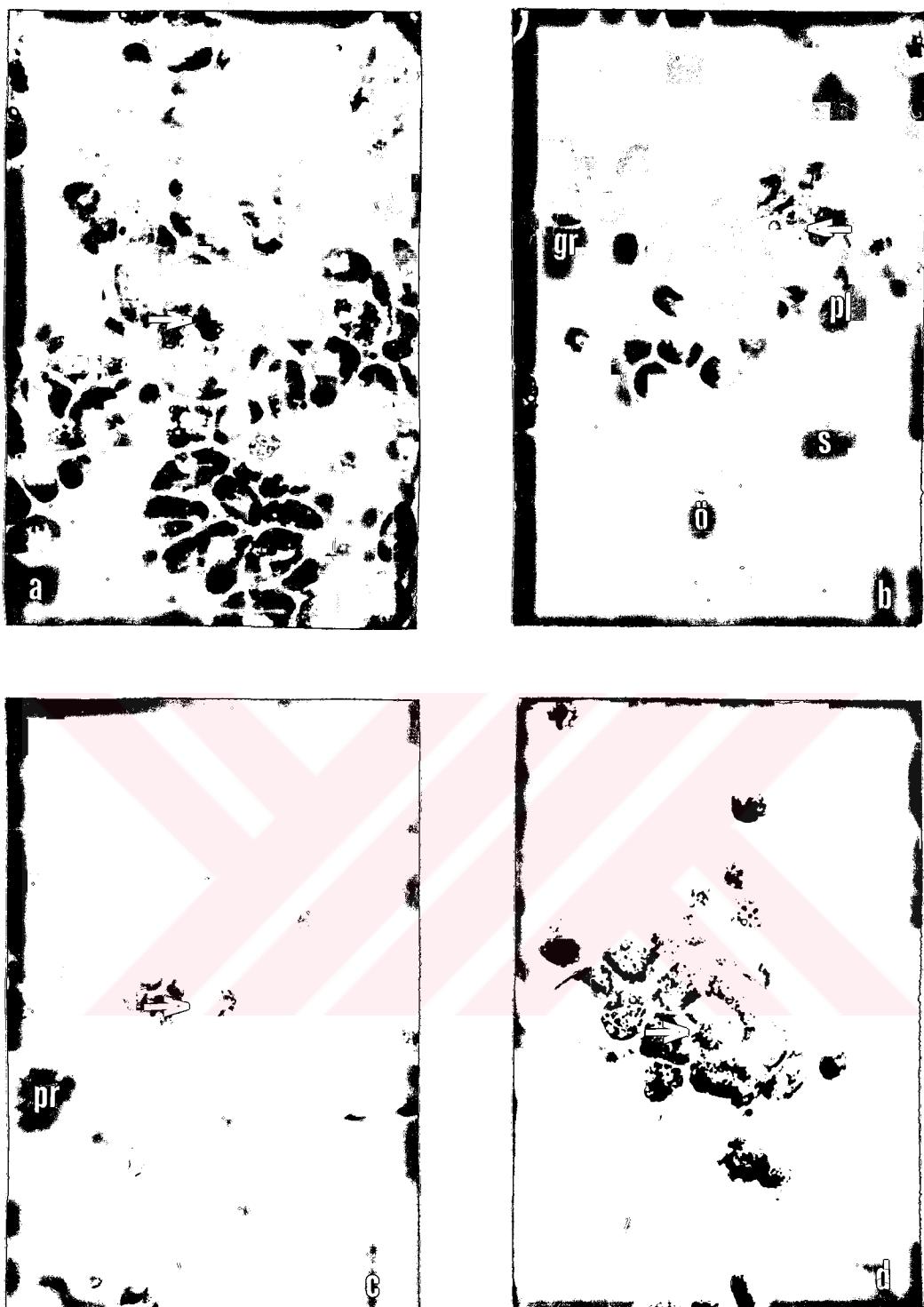
Omurgasız hayvanlardaki kan hücrelerinin omurgalılarda olduğu gibi yabancı objeleri tanıyarak, hücresel ve humoral bağışıklık reaksiyonu gösterdiği bilinmektedir. Diğer omurgasız türlerinde olduğu gibi *A. segetum*'da çeşitli kan hücresi tipleri vardır. Bunlar esas olarak beş tip kan hücresi olarak belirlenmiştir: Prohemosit, Plasmatosit, Graniilosit, Sferül hücre ve Önositoidlerdir. Bunlardan graniilositlerin ve plasmatositlerin humoral ve hücresel bağışıklık reaksiyonlarında aktif olarak görev yaptığı bilinmektedir. Yabancı obje sayısının fazla olduğu durumlarda bu hücreler birleşerek objenin nodül ya da granuloma denilen bir hücre tabakası meydana getirmektedirler (Şekil 3.1.1).

Nodül oluşumu iki aşamada olur. İlk aşamada hemolenfdeki bakteriler *G. mellonella* ve *A. segetum*'da görülen graniilositler ile diğer bazı böcek türlerinde görülen koagülosit diye adlandırılan hücrelerle karşılaşıldığı zaman bu hücrelerde degraniülasyon meydana geldiği görülür. Hemositler tarafından boşaltılan granüler madde ile bakteriler birbirlerine ile yapışarak küçük bir kütte oluştururlar. Bakteriler, başlangıçda fagositoz olayı ile hücre içine alınabilir, ancak granüler madde ile bakterilerin yapışması suretle meydana geldiği için fagositoz fazla etkili olmayabilir. Nodül oluşumunun ikinci aşaması melâninleşme olayıdır. Melâninleşme olayı, böceklerde tanıma mekanizması için önemli bir ipucu olarak kabul edilir. Melâninleşmiş merkezi bir çekirdek etrafına yassılaşmış plasmatositler dizilir. Bu hücreler içinde bir, iki fagosite olmuş bakteri bulunabilir. Nodül oluşumunun bu safhası parazitlere karşı meydana gelen kapsül oluşumuna benzer bir olaydır. Nodül içinde patojen olan bakteriler ölürlər. Ancak bunlar sporlu safhada ise daha sonra çoğalarak nodüllü parçalarlar ve hemolenfe yayılarak hastalığa neden olurlar ve konukçu hayvanı öldürürler. Patojen olmayanlar ise uzun zaman nodül içinde kalırlar.

3.2. Çeşitli Bakteri Dozlarında *A. segetum*'da Nodül Oluşumu

Çalışmada *A. segetum* larvalarının *Bacillus thuringiensis* subsp. *berliner* suşuna karşı hücresel bağışıklık reaksiyonu incelenmiştir. Bakteri dozları 1/2 ve 1/5 oranında hazırlanarak larvalara enjekte edilmiş ve 10, 30, 60 ve 120 dakika aralıklarla alınan hemolenf örneklerinde nodül oluşumu gözlenmiştir. Bakteri enjeksiyonundan sonraki süreler dikkate alındığında, nodül büyüklüklerinin de farklı olduğu gözlenmiştir. Denemede larvalara 1/5 oranında bakteri dozu enjekte edilmiş ve 10, 30, 60 ve 120 dakika sonraki nodüllerin zamana göre farklı büyüklükte olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.2.1). Aynı şekilde larvalara 1/2 oranında bakteri dozu enjekte edildiğinde 10, 30, 60 ve 120 dakika sonraki nodül oluşumlarının da farklı büyüklükte olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.2.2). Bakteri dozları (1/5, 1/2) dikkate alındığında, bakterilere karşı hemositler aynı sürelerde farklı büyüklükte nodül oluşturmuşlardır. Şekil 3.2.3'de görüleceği gibi enjeksiyondan 10 dakika sonra 1/5 oranında bakteri dozuna karşı oluşturulan nodül 1/2 oranındaki bakteri dozuna karşı oluşturulan nodülden daha küçük olmuştur.

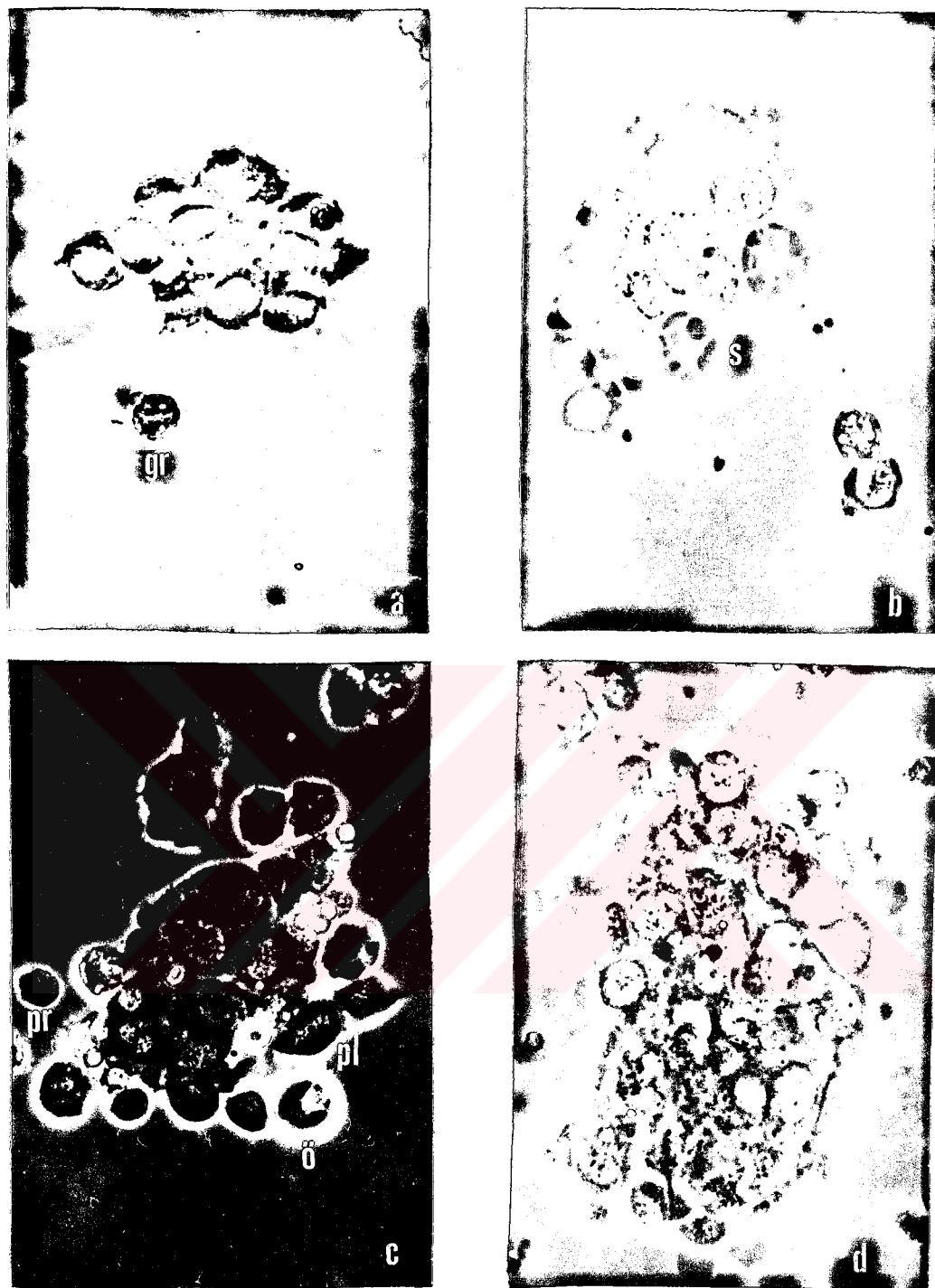
Parazitlenme süresi daha uzun olan örneklerde (30, 60, 120 dakikalarda) büyük nodüllerle birlikte küçük nodüllere de rastlanmıştır. Enjekte edilen bakteri dozuna karşı larvalarda parazitlenme süreleri içinde hiçbir nodül oluşmadığı da gözlenmiştir (Şekil 3.2.4).



Şekil 3.1.1. *Bacillus thuringiensis* subsp. *berlineri* suyu enjekte edilmiş *A. segetum* larvalarındaki nodül oluşumları. X 750

- a) 3. evre son safhadaki larvada 30 dakikalık nodül
- b) " " " " 120 " "
- c) 4. evre orta safhadaki larvada 10 " "
- d) 5. " " " " 30 " "

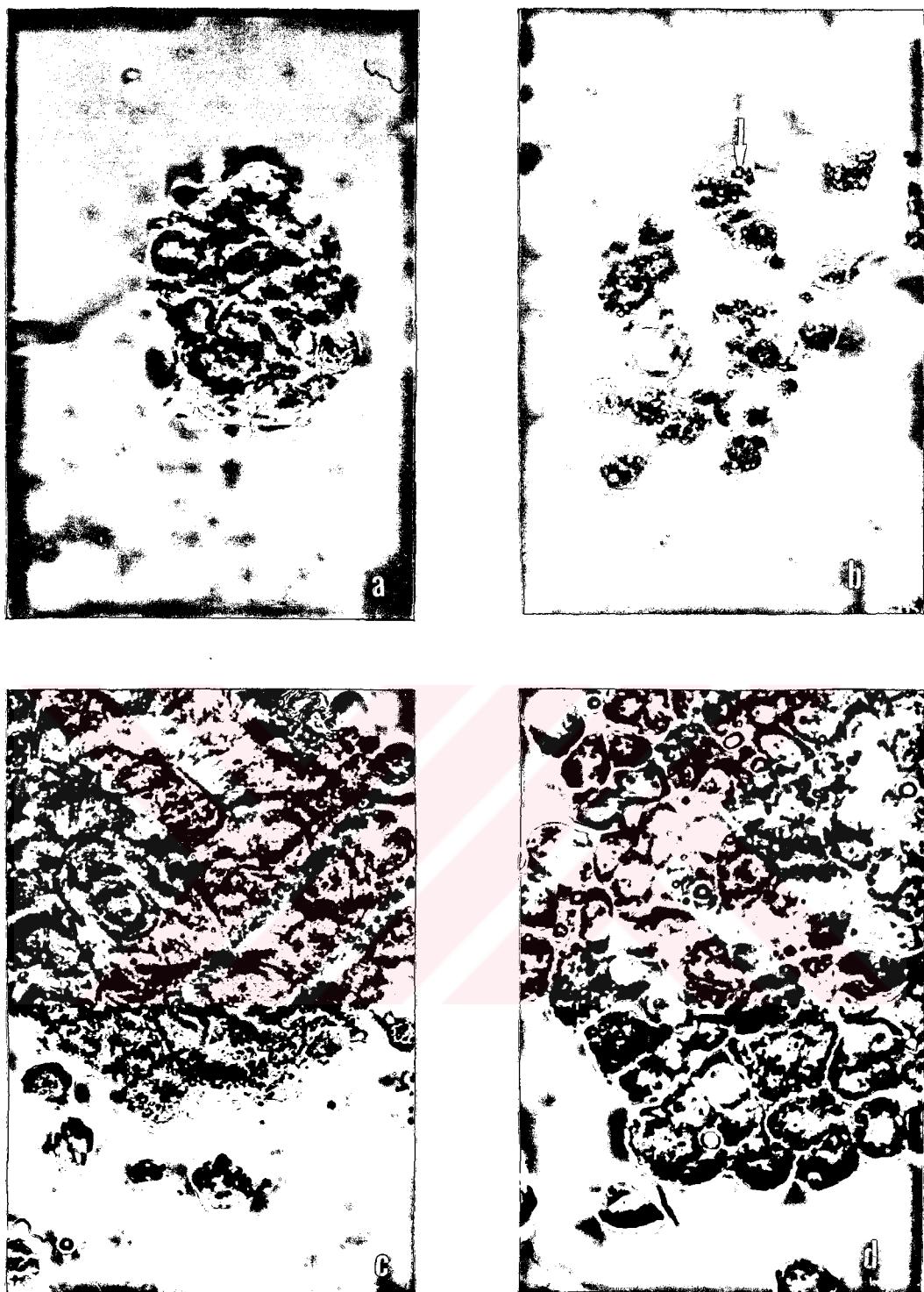
Nodül içindeki bakteri yığını (okla gösterilen), pr. prohemosit, pl. plasmatosit, gr. granulosit, s. sferül hücre, ö. önositojd.



Şekil 3.2.1. *A. segetum* 6. evre larvasına 1/5 oranında bakteri dozu enjekte edildikten sonra farklı sürelerde hemositlerin oluşturdukları nodül büyüklükleri. X 750

- a) 10 dakikalık enjeksiyondan sonraki nodül
- b) 30 " " " "
- c) 60 " " " "
- d) 120 " " " "

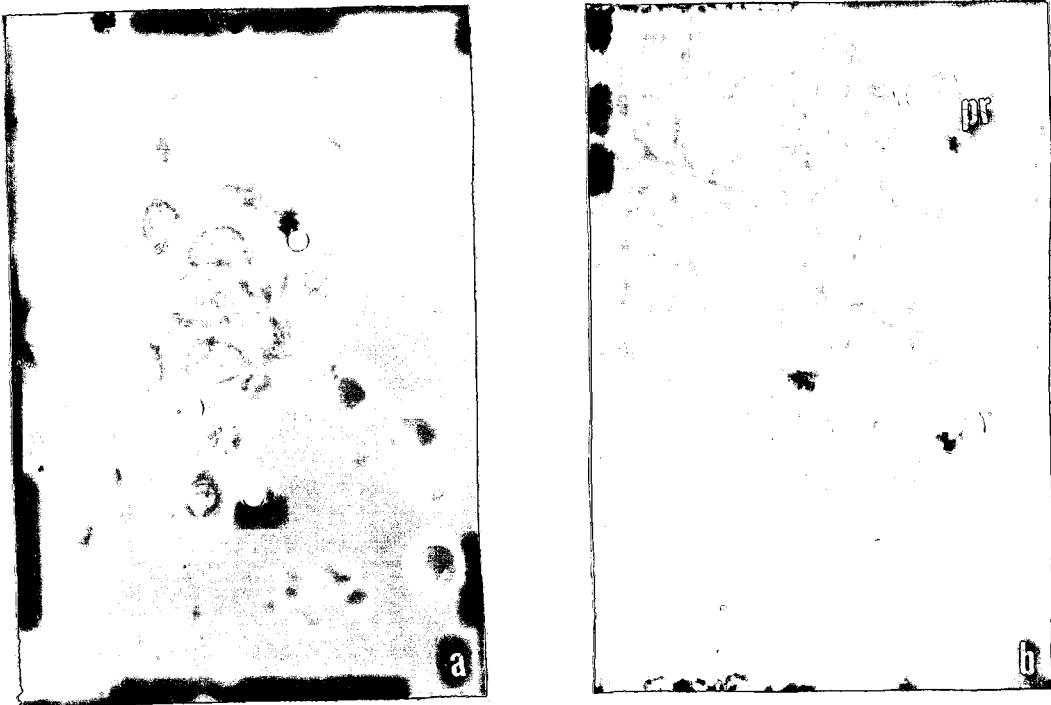
pr. prohemosit, pl. plasmatosit, gr. granulosit,
ö. önositojd, s. sferül hücre,



Şekil 3.2.2. *A. segetum* 5. evre larvasına 1/2 oranında bakteri dozu enjekte edildikten sonra farklı sürelerde hemositlerin oluşturdukları nodül büyüklükleri. X 750

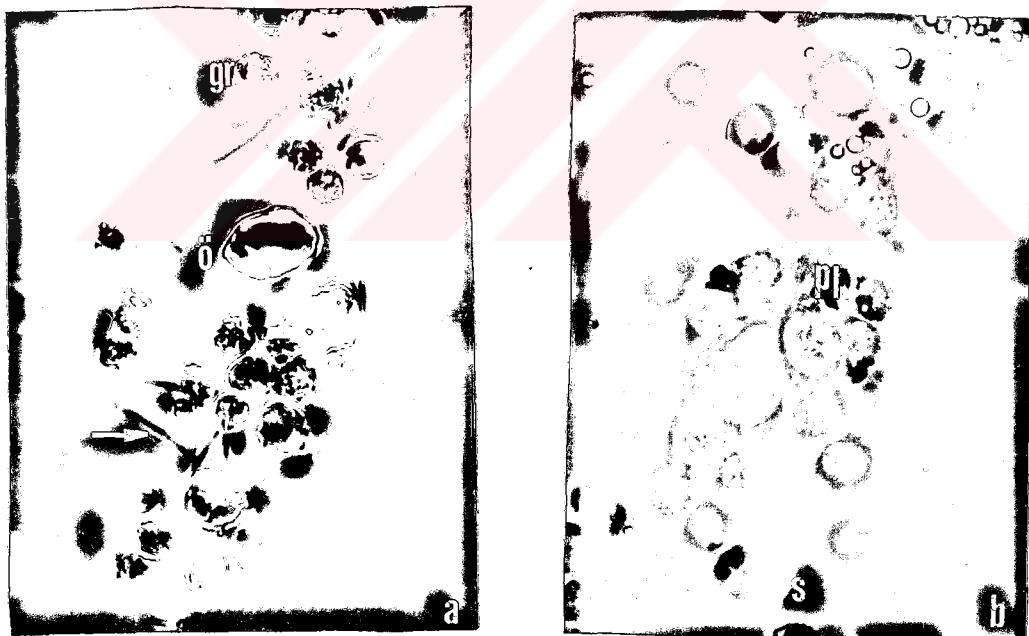
- a) 10 dakikalık enjeksiyondan sonraki nodül
- b) 10 " "
- c) 10 " "
- d) 10 " "

Fögosite edilmiş bakteri sporu (okla gösterilen).



Şekil 3.2.3. Farklı bakteri dozlarına karşı aynı sürede hemositlerin oluşturduğu nodül büyüklüğü. X 750

- a) 1/5 oranındaki bakteri dozuna karşı 30 dakikalık nodül
- b) 1/2 oranındaki bakteri dozuna karşı 30 dakikalık nodül



Şekil 3.2.4. Parazitlenme süresi içinde serbest dolaşan bakteriler. X 750

- a) 1/2 bakteri dozuna karşı larva hemoleninde serbest bakteri ve hemositler,
- b) 1/5 bakteri dozuna karşı larva hemoleninde serbest bakteri ve hemositler.

Bakteri zinciri (okla gösterilen). pl. plasmatosit, ö. önositoid, pr. prohemosit, s. sferül hücre, gr. granulosit.

3.3. Normal ve Parazitli Larvalarda Total Hemosit Sayımı

A. segetum larvalarında daha önce belirtildiği gibi beş tip kan hücresi tanımlanmıştır. Normal larvalarda total ve differansiyel hemosit sayımlarının ortalaması Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Larvalardaki evrelere ve evreler içindeki safhalara göre total hemosit sayısı Şekil 3.3.1'de değerlendirilmiştir. Tablo 3.1'de ve Şekil 3.3.1'de görüleceği gibi larva yaşı ilerledikçe total hemosit sayısında azalma olduğu gözlenmiştir. Örneğin, 3. evre erken safhadaki larvada total hemosit sayısı 21475, 6. evre erken safhadaki larvada ise 10440 olarak sayılmıştır. Larvaların her evresinde, total hemosit sayısında (erken safhadan geç safhaya doğru) azalma olduğu gözlenmiştir. Örneğin, 4. evre larvada total hemosit sayısı, erken safhada 15150, orta safhada 13985, geç safhada ise 12765 olarak sayılmıştır.

Parazitli larvalarda total hemosit sayımı, her sayım için evreler ve safhalar dikkate alınarak beş larva kullanılmıştır. Materyal ve metot kısmında belirtildiği gibi 3. evre erken safhadaki parazitli larvalardan hemolenf örnekleri alınamamıştır. Bakteri dozu 1/5 ve 1/2 olarak verilen parazitli larvaların total ve differansiyel hemosit sayımları tablo ve şekillerle gösterilmiştir. Bakteri dozu 1/5 oranında verilen parazitli larvalarda enjeksiyondan 10, 30, 60 ve 120 dakika sonra alınan hemolenf örneklerindeki total ve differansiyel sayımlarının ortalamaları Tablo 3.2 ve 3.3'de gösterilmiştir.

Bakteri dozu 1/5 oranında enjekte edilen parazitli larvalardan enjeksiyondan 10 ve 30 dakika sonra alınan total hemosit sayımlarının ortalaması, ayrıca Şekil 3.3.2'de, 60 ve 120 dakika sonraki alınan ortalamalarda Şekil 3.3.3'de gösterilmiştir. Şekil ve tablolardaki gibi, 3. evreye doğru total hemosit sayısında azalma olmuştur. Örneğin enjeksiyondan 10 dakika sonra 3. evre orta safha larvaladaki total hemosit sayısı 20620 iken, 6. evre orta safha larvada 9040 olarak sayılmıştır. Bakteri dozu 1/5 oranında enjekte

edilmiş parazitli larvalarda evreler içinde, erken safhadan geç safhaya doğru total hemosit sayısında azalma görülmüştür. Örneğin, Tablo 3.2'de 4. evre larva enjeksiyonundan 60 dakika sonra total hemosit sayısı erken safhada 21210, orta safhada 19500, geç safhada ise 16900 olarak sayılmıştır.

Bakteri dozu 1/2 oranında enjekte edilen parazitli larvalardan enjeksiyon süreleri (10, 30, 60 ve 120 dakika) sonunda alınan hemolenf örneklerindeki total ve differansiyel hemosit sayılarının ortalamaları Tablo 3.4 ve 3.5'de, grafikleri ise Şekil 3.3.4 ve 3.3.5'de gösterilmiştir. Tablo ve grafiklerde de görüldüğü gibi, parazitli larvaların evre yaşı ilerledikçe total ve differansiyel hemosit sayılarında azalma olmuştur. Örneğin, 3. evre orta safha larvada (Tablo 3.4'de) enjeksiyondan 120 dakika sonra total hemosit sayısı 22090 iken, 6. evre orta safhadaki larvada (Tablo 3.5'de) 13000 olmuştur. Parazitli larva evrelerinde erken safhadan geç safhaya doğru total hemosit sayısında da azalma görülmüştür. Örneğin Tablo 3.5'de, 5. evre parazitli larvada enjeksiyondan 10 dakika sonra total hemosit sayısı erken safhada 14230, orta safhada 13560, geç safhada ise 10830'dur.

Normal larvalara göre *B.thuringiensis* subsp. *berliner* suşu enjekte edilmiş parazitli larvalarda total hemosit sayısında artış olduğu gözlenmiştir. Parazitli larvalarda, normal larvalara oranla total hemosit sayısında görülen bu artış şekillerle gösterilmiştir (Şekil 3.3.6,7,8,9,10,11). Örneğin Tablo 3.1'de de görüldüğü gibi 3. evre orta safhadaki total hemosit sayısı normal larvalarda 19300 iken, bakteri enjekte edildikten 10 dakika sonra 1/5 oranında bakteri dozu enjekte edilen larvalarda 20620 (Tablo 3.2), 1/2 oranında ise 19890 olarak görülmüştür (Tablo 3.4). Diğer evrelerde de aynı durum şekillerde kolayca izlenebilir.

Parazitli larvalarda enjekte edilen bakteri dozlarına karşı total hemosit sayısındaki artış farklı olmuştur. Genellikle (3. evre orta safha, 4. evre geç safha, 5. evre erken safha hariç) 1/2 ora-

nında bakteri dozu enjekte edilen parazitli larvalardaki total hemosit sayısındaki artış, 1/5 oranına göre daha az olmuştur. Örneğin, Şekil 3.3.10'da görüldüğü gibi 1/5 oranında bakteri dozu enjekte edildikten 60 dakika sonra 6. evre erken safhadaki total hemosit sayısı 13740, 1/2 oranında bu sayı 11620'dir. Bakteri dozu 1/2 olarak enjekte edilen larvalardaki total hemosit sayısının 1/5 oranındakiilere göre az olmasının nedeni muhtemelen hemositlerin bu doza karşı büyük nodül oluşturmasından dolayı olabilir.

3.4. Normal ve Parazitli Larvalarda Differansiyel Hemosit Sayımı

Normal ve parazitli larvalarda differansiyel hemosit sayımı, prohemosit, plasmatosit, granülosit, sferül hücre ve önositoid hücreleri sayılarak yapılmıştır. Tablo 3.1'de normal *A. segetum* larvalarında differansiyel hemosit sayısı ortalamaları verilmiştir. Tabloya göre larva devresinde sferül hücre ve önositoidlerin sayısı diğer hücrelere oranla daha azdır. Örneğin, 3. evre erken safhadaki larvalarda prohemosit sayısı 8590, plasmatosit sayısı 9080, granülosit sayısı 2685, sferül hücre sayısı 295, önositoid hücre sayısı 455; 6. evrede geç safhadaki larvalarda prohemosit sayısı 3855, plasmatosit sayısı 2540, granülosit sayısı 1330, sferül hücre sayısı 80, önositoid hücre sayısı 265'dir.

Genel olarak prohemosit ve plasmatositlerin sayısının, granülosit sayısından daha fazla olduğu görülmüştür. Örneğin, Tablo 3.1'de görüldüğü gibi 3. evre geç safhadaki larvalarda prohemosit sayısı 7560, plasmatosit sayısı 6530, granülosit sayısı 2260'dır. Larva yaşı ilerledikçe hücre tiplerinin sayısında da genel olarak bir azalma olmuştur. 3. evre erken safhada prohemosit sayısı 8590, plasmatosit sayısı 9080, granülosit sayısı 2685, sferül hücre sayısı 295, önositoid hücre sayısı 455'dir. 6. evre erken safhadaki larvalarda ise prohemosit sayısı 4485, plasmatosit sayısı 3375, granülosit sayısı 1970, sferül hücre sayısı 335, önositoid hücre sayısı 275 olmuştur (Tablo 3.1).

Bakteri enjekte edilen parazitli larvalarda genel olarak plasmatosit ve graniilosit sayısında artış gözlenmiştir. Normal larvaların 3. evre orta safhasında plasmatosit sayısı 8595, graniilosit sayısı 2160 (Tablo 3.1), 1/5 oranında bakteri dozu enjekte edildikten 30 dakika sonra parazitli larvaların 3. evre orta safhasında plasmatosit sayısı 8820, graniilosit sayısı 6300'dür (Tablo 3.2). 3. evre orta safhadaki larvalara 1/2 oranında bakteri dozu enjekte edildikten 30 dakika sonra plasmatosit sayısı 8080, graniilosit sayısı 6900 olmuştur (Tablo 3.4).

Normal larvalara göre parazitli larvalarda plasmatosit ve graniilosit sayısında artış olduğu halde, sferül hücre sayısında azalma olmuştur. Örneğin, 6. evre orta safhadaki normal larvada sferül hücre sayısı 235 (Tablo 3.1), 1/5 oranında bakteri enjekte edildikten 30 dakika sonra 6. evre orta safhadaki parazitli larvada sferül hücre sayısı 100 (Tablo 3.3) ve 1/2 oranında parazitlenmiş larvalarda sferül hücre sayısı 10'dur (Tablo 3.5). Prohemositler ve önositoidlerin parazitli larvalardaki sayılarında dikkate değer bir gelişme gözlenmemiştir.

Tablo 3.1. Normal larvalardaki total ve differansiyel hemosit sayısı ortalamaları.

EVRE	SAFHA	Differansiyel Hemosit Sayısı					Total Hemosit Sayısı
		Pr	Pl	Gr	S	Ø	
3. E V R E	Erken	8590 ± 151	9080 ± 923	2685 ± 197	295 ± 25	455 ± 25	21475 ± 143
	Orta	7440 ± 207	8595 ± 110	2160 ± 86	560 ± 49	545 ± 23	19300 ± 144
	Geç	7560 ± 204	6530 ± 183	2260 ± 91	1075 ± 58	535 ± 31	17960 ± 249
4. E V R E	Erken	7005 ± 227	4650 ± 175	2240 ± 67	755 ± 43	500 ± 30	15150 ± 279
	Orta	5465 ± 93	5530 ± 157	2000 ± 72	570 ± 53	420 ± 24	13985 ± 124
	Geç	5705 ± 97	4365 ± 156	1840 ± 37	325 ± 17	530 ± 23	12765 ± 182
5. E V R E	Erken	5530 ± 46	4265 ± 54	1685 ± 64	570 ± 30	360 ± 10	12410 ± 115
	Orta	4685 ± 94	3925 ± 154	1740 ± 38	390 ± 17	475 ± 36	11215 ± 138
	Geç	4520 ± 60	3880 ± 73	1905 ± 82	80 ± 5	350 ± 11	10735 ± 170
6. E V R E	Erken	4485 ± 43	3375 ± 40	1970 ± 32	335 ± 19	275 ± 9	10440 ± 67
	Orta	4010 ± 106	3515 ± 98	1390 ± 49	235 ± 13	345 ± 16	94950 ± 183
	Geç	3855 ± 68	2540 ± 76	1330 ± 44	80 ± 7	265 ± 11	8070 ± 141

Pr. Prohemosit, Pl. Plasmatosit, Gr, Granulosit, S., Sferül hücre,
Ø., Önositojdü hücre

Tablo 3.2. *A. segetum* 3. ve 4. evre larvalarına 1/5 oranında bakteri dozu enjekte edildikten 10, 30, 60 ve 120 dakika sonra tesbit edilen differensinel ve total hemosit sayısı ortalamaları.

LARVA	SAFHA	DAKİKA	Differensiyal Hemosit Sayısı					Total Hemosit Sayısı
			Pr	Pl	Gr	S	O	
3. E V R E	ORTA SAFHA	10	7310 ± 409	8570 ± 329	4050 ± 160	370 ± 74	320 ± 32	20620 ± 412
		30	5250 ± 326	8820 ± 239	6300 ± 518	220 ± 26	320 ± 38	20910 ± 382
		60	7340 ± 229	7070 ± 267	7180 ± 196	220 ± 26	320 ± 38	21960 ± 132
		120	6730 ± 193	10070 ± 135	5790 ± 190	230 ± 39	370 ± 56	23190 ± 210
	GEÇ SAFHA	10	5730 ± 220	7900 ± 344	5500 ± 183	190 ± 38	540 ± 68	19860 ± 244
		30	5030 ± 109	7980 ± 274	6740 ± 344	380 ± 58	570 ± 70	20700 ± 173
		60	6270 ± 262	8870 ± 118	5810 ± 169	210 ± 26	630 ± 36	21790 ± 154
		120	6780 ± 228	7670 ± 151	7350 ± 113	310 ± 39	620 ± 61	22730 ± 213
4. E V B E	ERKEN SAFHA	10	4030 ± 147	7600 ± 84	6220 ± 96	10 ± 4	170 ± 21	18030 ± 158
		30	4310 ± 104	8040 ± 261	7460 ± 212	30 ± 5	300 ± 24	20140 ± 419
		60	5560 ± 150	7950 ± 229	7020 ± 267	90 ± 11	590 ± 69	21210 ± 135
		120	7100 ± 346	7890 ± 338	6710 ± 217	130 ± 23	480 ± 15	22310 ± 324
	ORTA SAFHA	10	3590 ± 151	5890 ± 330	3790 ± 222	420 ± 27	500 ± 32	14190 ± 359
		30	5030 ± 147	6730 ± 263	5260 ± 270	330 ± 34	590 ± 37	17940 ± 193
		60	4500 ± 158	8140 ± 97	6570 ± 140	40 ± 8	250 ± 55	19500 ± 218
		120	5300 ± 154	8120 ± 162	6650 ± 80	160 ± 23	460 ± 49	20690 ± 275
	GEÇ SAFHA	10	3660 ± 221	5210 ± 232	3760 ± 157	260 ± 24	490 ± 36	13380 ± 274
		30	3330 ± 346	6130 ± 165	5680 ± 119	20 ± 5	240 ± 31	15400 ± 559
		60	4010 ± 332	7850 ± 629	4530 ± 240	120 ± 28	390 ± 119	16900 ± 835
		120	4730 ± 208	7890 ± 112	4260 ± 114	320 ± 34	600 ± 53	17800 ± 370

Pr. Prohemosit, Pl. Plasmatosit, Gr, Graniilosit, S., Sferül hücre,
O., Onositojel hücre

Tablo 3.3. *A. segetum* 5. ve 6. evre larvalarına 1/5 oranında bakteri dozu enjekte edildikten 10, 30, 60 ve 120 dakika sonra tesbit edilen differensiyal ve total hemosit sayısı ortalamaları.

LARVA	SAPHA	DAKİKA	Differensiyal Hemosit Sayısı					Total Hemosit Sayısı
			Pr	Pl	Gr	S	O	
5. E V R E	ERKEN SAFHA	10	2690 ± 132	4460 ± 108	3000 ± 113	80 ± 22	190 ± 25	10420 ± 251
		30	3280 ± 218	5900 ± 128	3680 ± 69	220 ± 56	340 ± 45	13420 ± 250
		60	3920 ± 113	7060 ± 144	4300 ± 203	80 ± 21	210 ± 13	15570 ± 344
		120	3620 ± 194	9130 ± 299	6010 ± 424	70 ± 26	80 ± 18	18910 ± 323
	ORTA SAFHA	10	2330 ± 99	4670 ± 157	2920 ± 117	160 ± 61	230 ± 36	10310 ± 314
		30	3020 ± 92	5200 ± 177	3000 ± 134	30 ± 5	280 ± 27	11530 ± 291
		60	3140 ± 81	7030 ± 255	3900 ± 111	60 ± 13	370 ± 30	14500 ± 144
		120	4000 ± 112	8400 ± 60	5630 ± 150	210 ± 31	320 ± 17	18560 ± 270
6. E V B E	GEC SAFHA	10	2610 ± 80	4650 ± 109	2430 ± 53	90 ± 8	220 ± 17	10000 ± 173
		30	2590 ± 160	5690 ± 75	2760 ± 205	60 ± 13	130 ± 5	11230 ± 372
		60	3600 ± 155	5940 ± 251	4440 ± 265	50 ± 10	320 ± 13	14350 ± 257
		120	2870 ± 147	7320 ± 310	7840 ± 186	60 ± 13	170 ± 15	18260 ± 531
	ERKEN SAFHA	10	1790 ± 185	3990 ± 125	3430 ± 236	110 ± 19	220 ± 21	9540 ± 271
		30	2750 ± 104	4930 ± 196	3680 ± 144	140 ± 8	340 ± 34	11840 ± 265
		60	3210 ± 125	6160 ± 444	4030 ± 48	60 ± 13	280 ± 19	13740 ± 358
		120	4010 ± 124	6940 ± 168	4950 ± 245	50 ± 14	220 ± 17	16170 ± 138
6. E V B E	ORTA SAFHA	10	2180 ± 98	4060 ± 93	2140 ± 106	280 ± 34	380 ± 36	9040 ± 227
		30	2480 ± 109	4680 ± 98	2790 ± 99	100 ± 10	270 ± 17	10320 ± 77
		60	2780 ± 96	5840 ± 354	4120 ± 136	70 ± 26	270 ± 72	13080 ± 305
		120	3930 ± 122	5670 ± 88	4450 ± 110	30 ± 5	280 ± 11	14360 ± 171
	GEC SAFHA	10	1730 ± 60	3690 ± 151	2670 ± 150	160 ± 28	220 ± 33	8470 ± 196
		30	1990 ± 43	4070 ± 224	2790 ± 218	140 ± 15	320 ± 19	9310 ± 202
		60	3030 ± 93	4700 ± 128	3010 ± 166	130 ± 11	280 ± 18	11150 ± 297
		120	3800 ± 151	5650 ± 138	3610 ± 98	130 ± 27	240 ± 39	13430 ± 211

Pr. Prohemosit, Pl. Plasmatosit, Gr, Granülosit, S., Sferül hücre,
O., Onositoyel hücre

Tablo 3.4. *A. segetum* 3. ve 4. evre larvalarına 1/2 oranında bakteri dozu enjekte edildikten sonra 10, 30, 60 ve 120 dakika sonra tespit edilen total ve differansiyel hemosit sayısı ortalamaları.

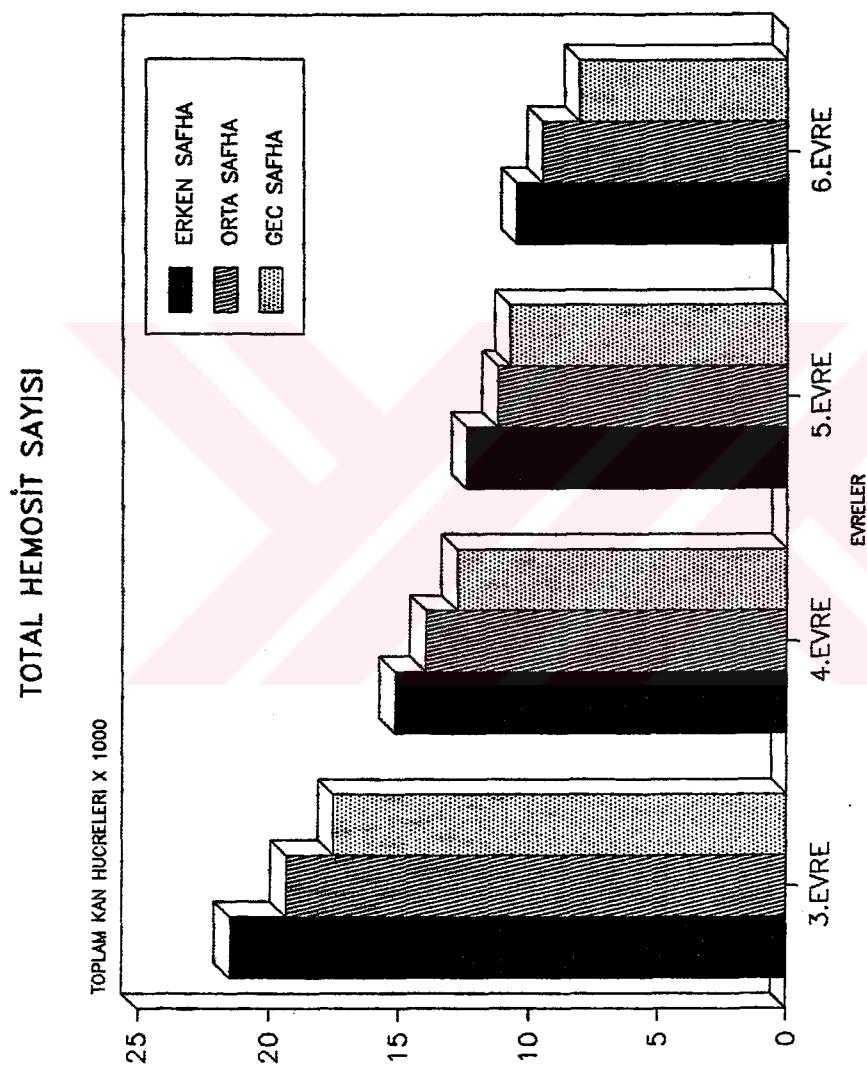
LARVA	SAPHA	DAKİKA	Differansiyel Hemosit Sayısı					Total Hemosit Sayısı
			Pr	Pl	Gr	S	O	
3. E V	ORTA SAFHA	10	5790 ± 184	7910 ± 329	5000 ± 251	400 ± 62	790 ± 58	19890 ± 307
		30	5300 ± 173	8080 ± 169	6900 ± 322	440 ± 80	620 ± 61	21340 ± 364
		60	7210 ± 160	8960 ± 232	5130 ± 188	200 ± 20	310 ± 31	21810 ± 364
		120	7040 ± 250	8300 ± 328	6060 ± 400	170 ± 15	520 ± 52	22090 ± 299
	GEÇ SAFHA	10	4050 ± 213	8620 ± 386	5970 ± 213	430 ± 25	430 ± 59	19500 ± 245
		30	7320 ± 180	5940 ± 331	6020 ± 417	80 ± 11	290 ± 42	19650 ± 409
		60	5680 ± 132	8330 ± 403	5940 ± 295	70 ± 17	370 ± 5	20390 ± 317
		120	3230 ± 115	10400 ± 430	7060 ± 69	60 ± 16	460 ± 40	21210 ± 317
4. E V	ERKEN SAFHA	10	6960 ± 349	7190 ± 71	3870 ± 62	260 ± 15	420 ± 49	18700 ± 298
		30	4380 ± 127	8550 ± 301	5940 ± 108	70 ± 26	130 ± 24	19070 ± 451
		60	8500 ± 214	8570 ± 170	5200 ± 214	230 ± 18	450 ± 45	22950 ± 219
		120	5410 ± 142	9930 ± 139	7450 ± 198	120 ± 11	270 ± 11	23180 ± 447
	ORTA SAFHA	10	4610 ± 187	6470 ± 162	4130 ± 274	300 ± 33	560 ± 43	16070 ± 275
		30	5420 ± 204	7430 ± 243	5380 ± 226	100 ± 21	420 ± 51	18750 ± 107
		60	4700 ± 168	9100 ± 315	6840 ± 222	400 ± 47	690 ± 45	21730 ± 455
		120	5170 ± 267	9880 ± 71	7570 ± 223	180 ± 32	420 ± 17	23220 ± 363
	GEÇ SAFHA	10	3840 ± 180	5810 ± 137	4780 ± 75	190 ± 52	410 ± 79	15030 ± 286
		30	3710 ± 245	5340 ± 266	6330 ± 316	160 ± 15	370 ± 22	15910 ± 297
		60	4580 ± 114	7420 ± 96	5830 ± 76	110 ± 18	440 ± 58	18380 ± 219
		120	5910 ± 137	8320 ± 239	6510 ± 396	140 ± 13	470 ± 46	21350 ± 180

Pr. Prohemosit, Pl. Plasmatosit, Gr, Granulosit, S., Sferül hücre,
O., Önosito~~fol~~ hücre

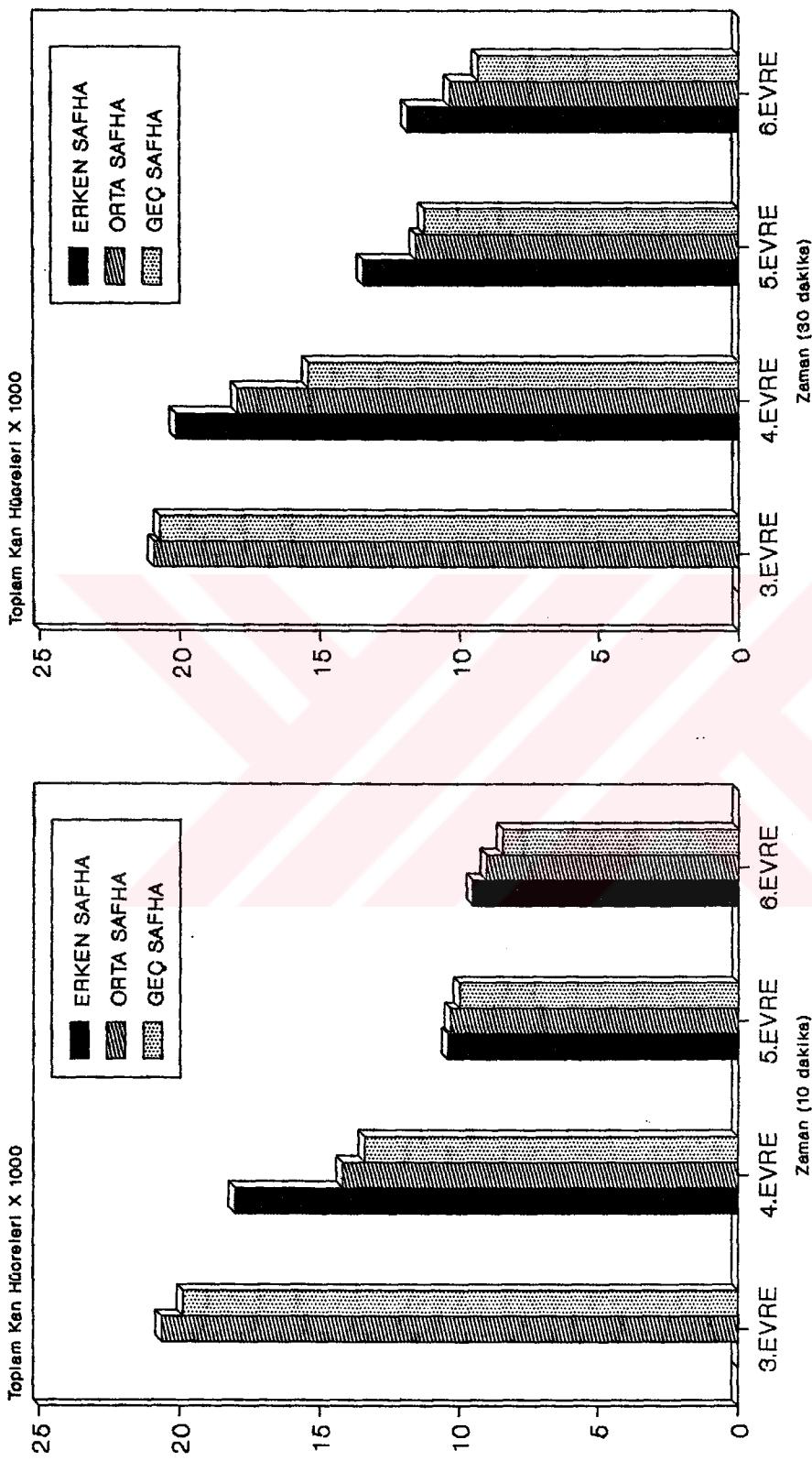
Tablo 3.5. *A. segetum* 5. ve 6. evre larvalarına 1/2 oranında bakteri dozu enjekte edildikten sonra 10, 30, 60 ve 120 dakika sonra tespit edilen total ve differensiyal hemosit sayısı ortalamaları.

LARVA	SAFHA	DAKİKA	Differensiyal Hemosit Sayısı					Total Hemosit Sayısı
			Pr	Pl	Gr	S	O	
5. E V R E	ERKEN SAFHA	10	3210 ± 279	6470 ± 486	4010 ± 166	70 ± 15	470 ± 46	14230 ± 630
		30	3010 ± 109	7820 ± 260	4180 ± 133	250 ± 65	250 ± 22	15510 ± 369
		60	4570 ± 121	6980 ± 195	4940 ± 304	190 ± 34	190 ± 23	16870 ± 389
		120	5320 ± 172	7590 ± 173	4240 ± 267	330 ± 42	480 ± 31	17960 ± 152
	ORTA SAFHA	10	3660 ± 181	6030 ± 134	3580 ± 374	90 ± 8	200 ± 16	13560 ± 543
		30	3880 ± 270	5440 ± 238	3870 ± 220	120 ± 11	230 ± 40	13540 ± 337
		60	4940 ± 109	6320 ± 324	3810 ± 179	390 ± 38	540 ± 34	16000 ± 515
		120	3960 ± 79	8550 ± 116	3150 ± 101	170 ± 15	550 ± 40	16380 ± 229
6. E V R E	GEÇ SAFHA	10	2650 ± 195	5060 ± 342	2780 ± 151	80 ± 5	260 ± 33	10830 ± 620
		30	2940 ± 114	5780 ± 400	3350 ± 60	160 ± 13	190 ± 8	12420 ± 427
		60	3260 ± 63	4620 ± 128	4970 ± 96	40 ± 13	220 ± 30	13110 ± 94
		120	3120 ± 83	6210 ± 76	5940 ± 79	150 ± 19	220 ± 26	15640 ± 78
	ERKEN SAFHA	10	3220 ± 300	3620 ± 161	2840 ± 132	140 ± 29	160 ± 15	9980 ± 254
		30	3210 ± 172	5120 ± 347	3120 ± 176	90 ± 16	330 ± 23	11880 ± 487
		60	1580 ± 25	5410 ± 113	4200 ± 141	10 ± 4	420 ± 26	11620 ± 27
		120	2050 ± 91	5920 ± 129	4360 ± 141	40 ± 13	430 ± 23	12800 ± 262
6. E V R E	ORTA SAFHA	10	1540 ± 73	5130 ± 502	1990 ± 63	10 ± 4	70 ± 15	8740 ± 504
		30	2240 ± 217	5230 ± 170	4100 ± 308	10 ± 4	30 ± 5	16610 ± 198
		60	2600 ± 131	5610 ± 195	3730 ± 350	10 ± 4	180 ± 19	12130 ± 374
		120	2350 ± 65	7270 ± 319	3180 ± 125	0	200 ± 40	13000 ± 344
	GEÇ SAFHA	10	1450 ± 73	3820 ± 131	2370 ± 190	110 ± 25	380 ± 41	8130 ± 228
		30	2870 ± 69	4540 ± 185	3590 ± 157	120 ± 15	210 ± 96	11330 ± 335
		60	1920 ± 166	5260 ± 258	5310 ± 296	40 ± 8	250 ± 24	12780 ± 280
		120	2660 ± 199	5110 ± 320	4310 ± 977	800 ± 166	380 ± 35	12660 ± 450

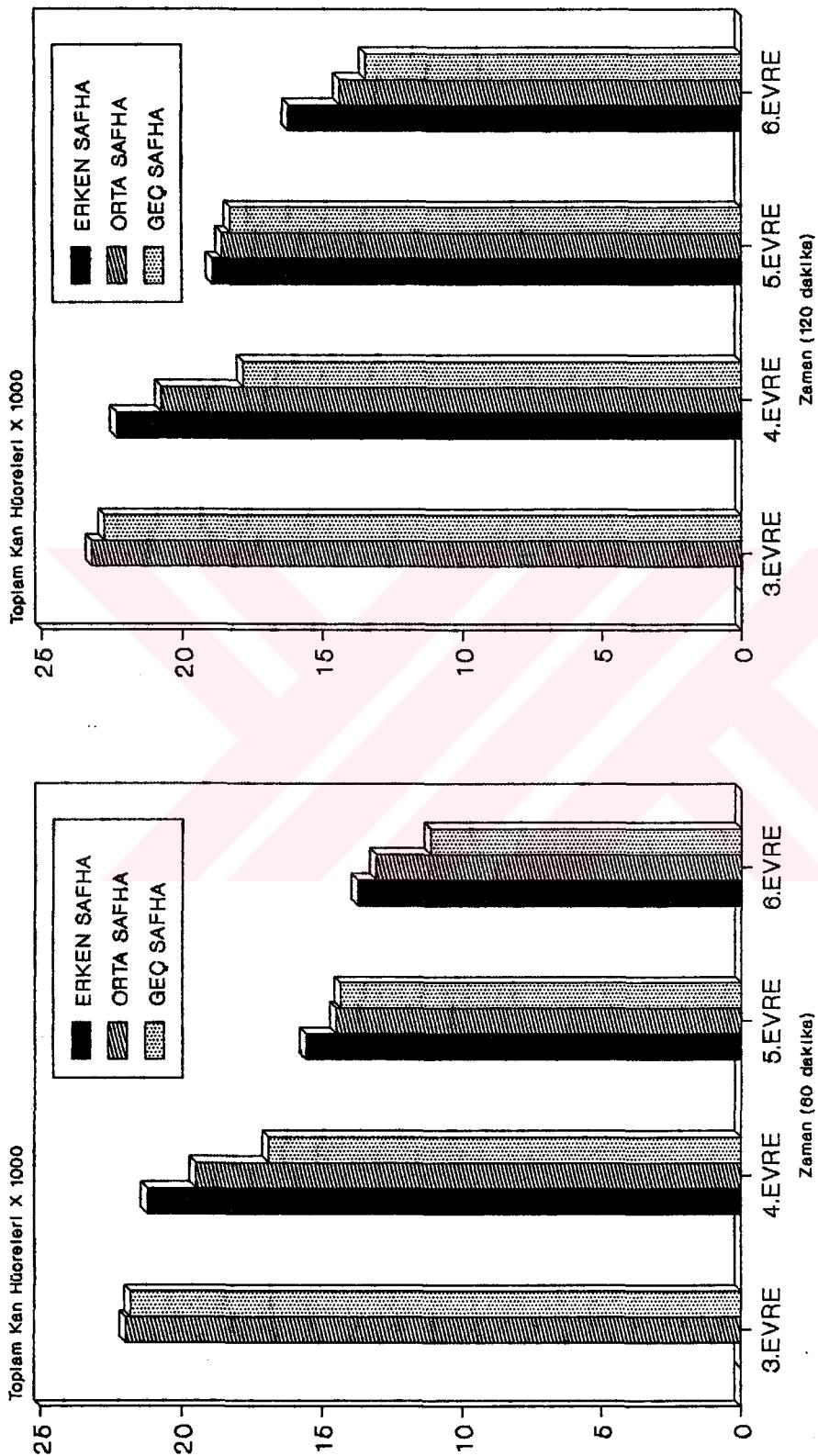
Pr. Prohemosit, Pl. Plasmatosit, Gr, Granulosit, S., Sferül hücre,
O., Onositojik hücre



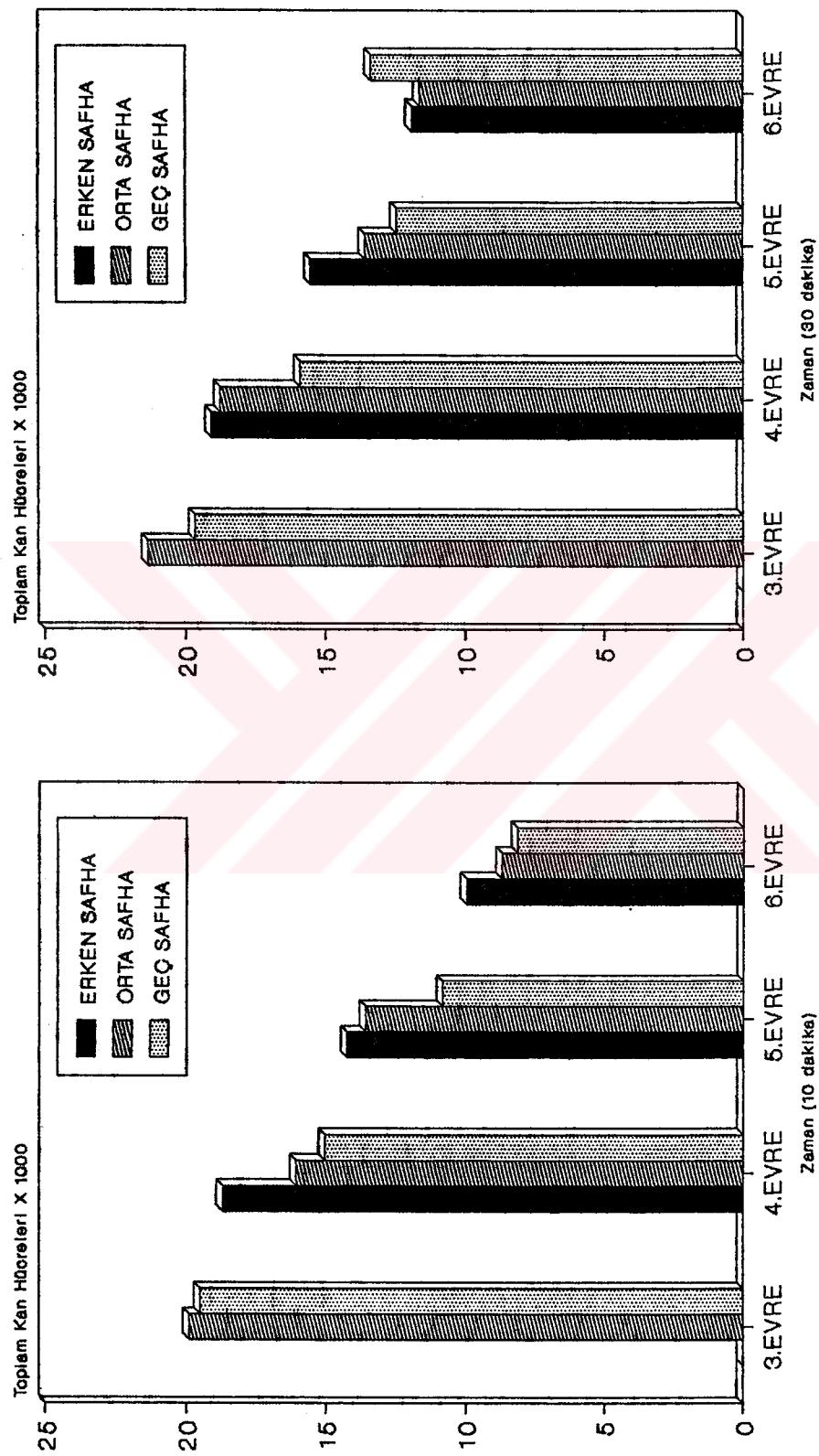
Sekil 3.3.1. Normal larvalarda tesbit edilen total hemosit sayisi.



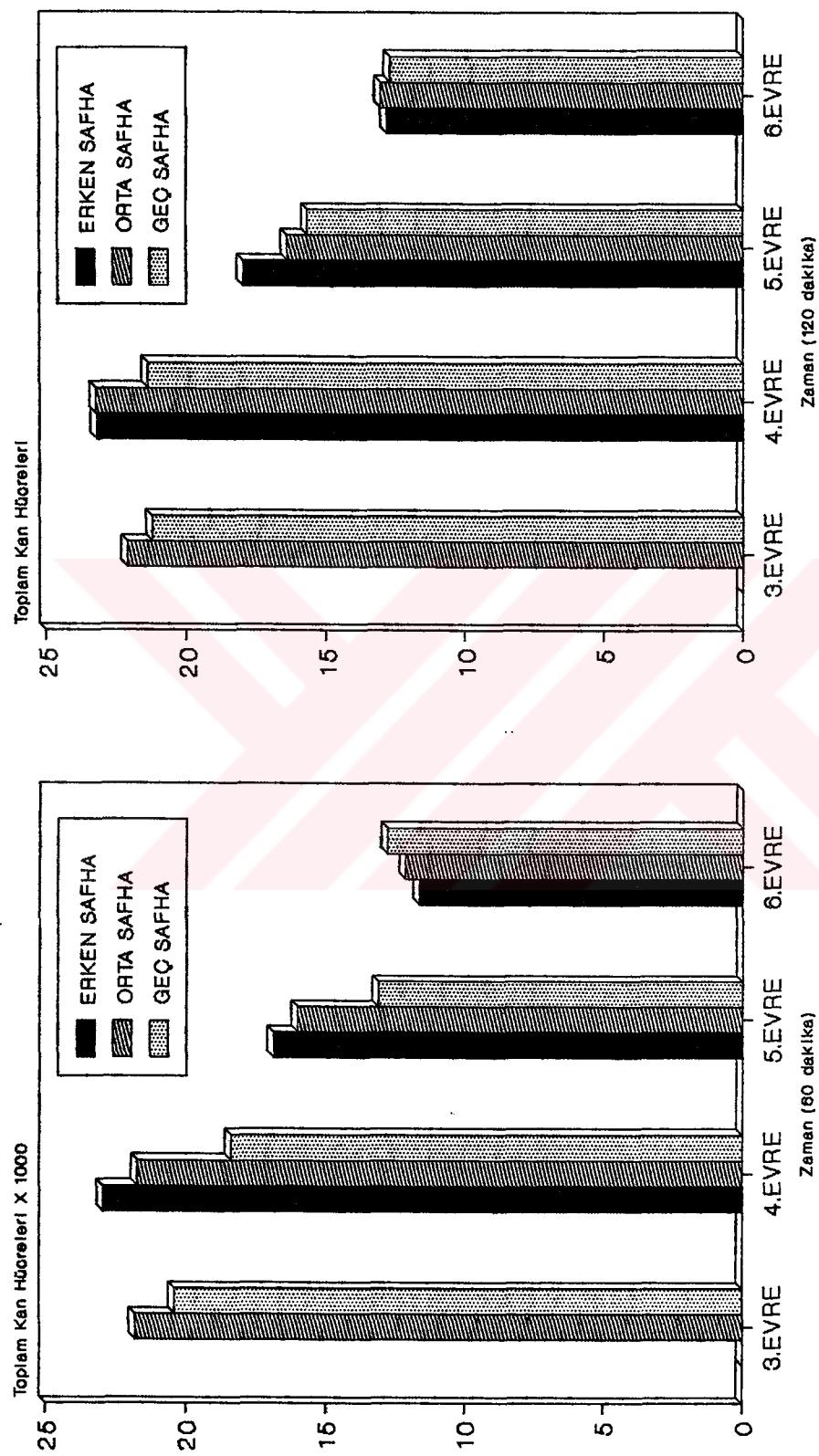
Sekil 3.3.2. *A. segetum* larvalarına 1/5 oranında bakteri dozu enjekte edildikten 10 ve 30 dakika sonra tesbit edilen total hemosit sayısı.



Sekil 3.3.3. *A. segetum* larvalarına 1/5 oranında bakteri dozu enjekte edildikten 60 ve 120 dakika sonra tesbit edilen total hemosit sayısı.



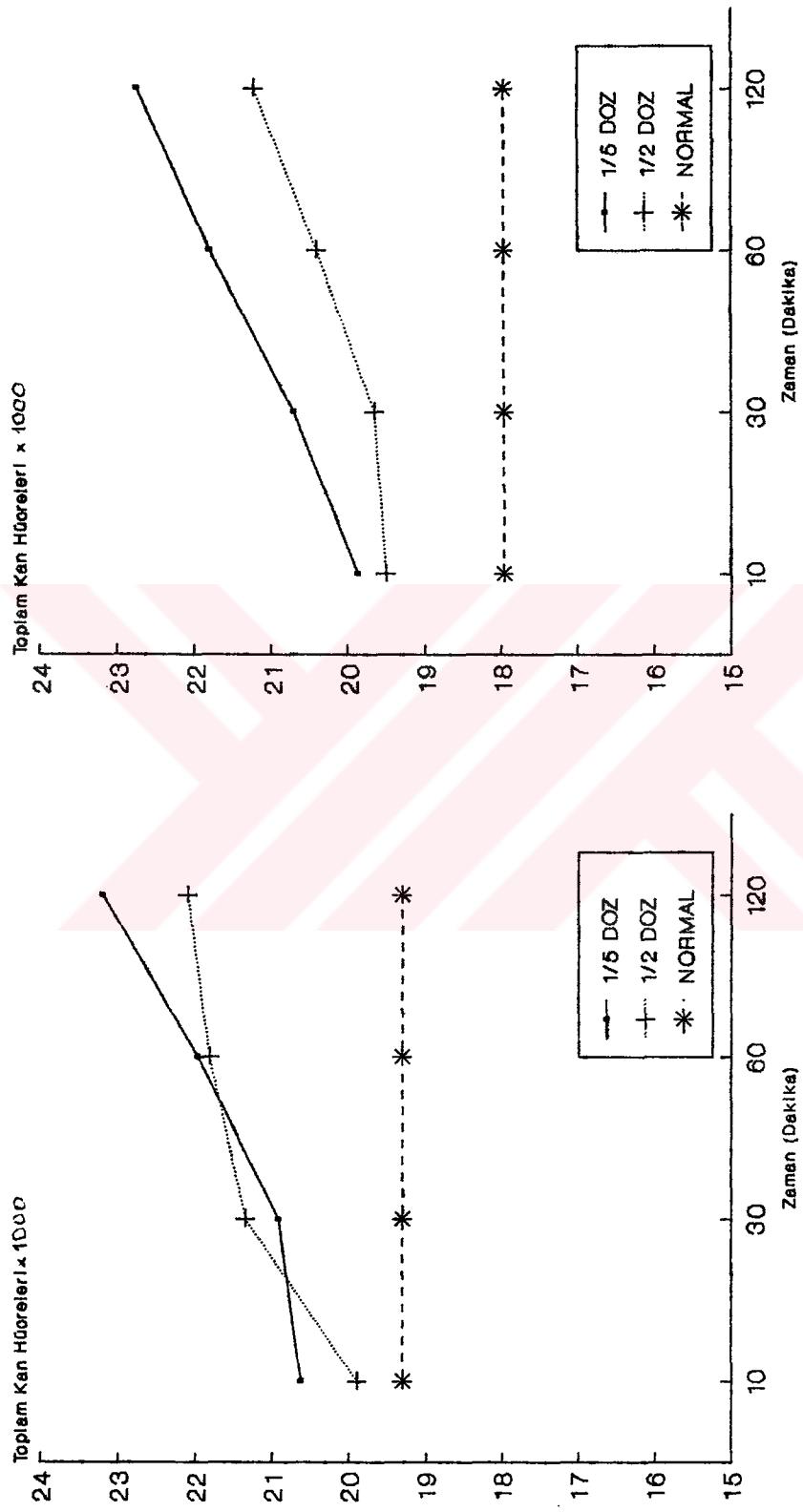
Şekil 3.3.4. *A. segetum* larvalarına 1/2 oranında bakteri dozu enjekte edildikten 10 ve 30 dakika sonra tespit edilen total hemosit sayısı.



Şekil 3.3.5. *A.segetum* larvalarına 1/2 oranında bakteri dozu enjekte edildikten 60 ve 120 dakika sonra tespit edilen total hemosit sayısı.

3.EVRE ORTA SAFHA TOTAL HEMOSIT SAYISI

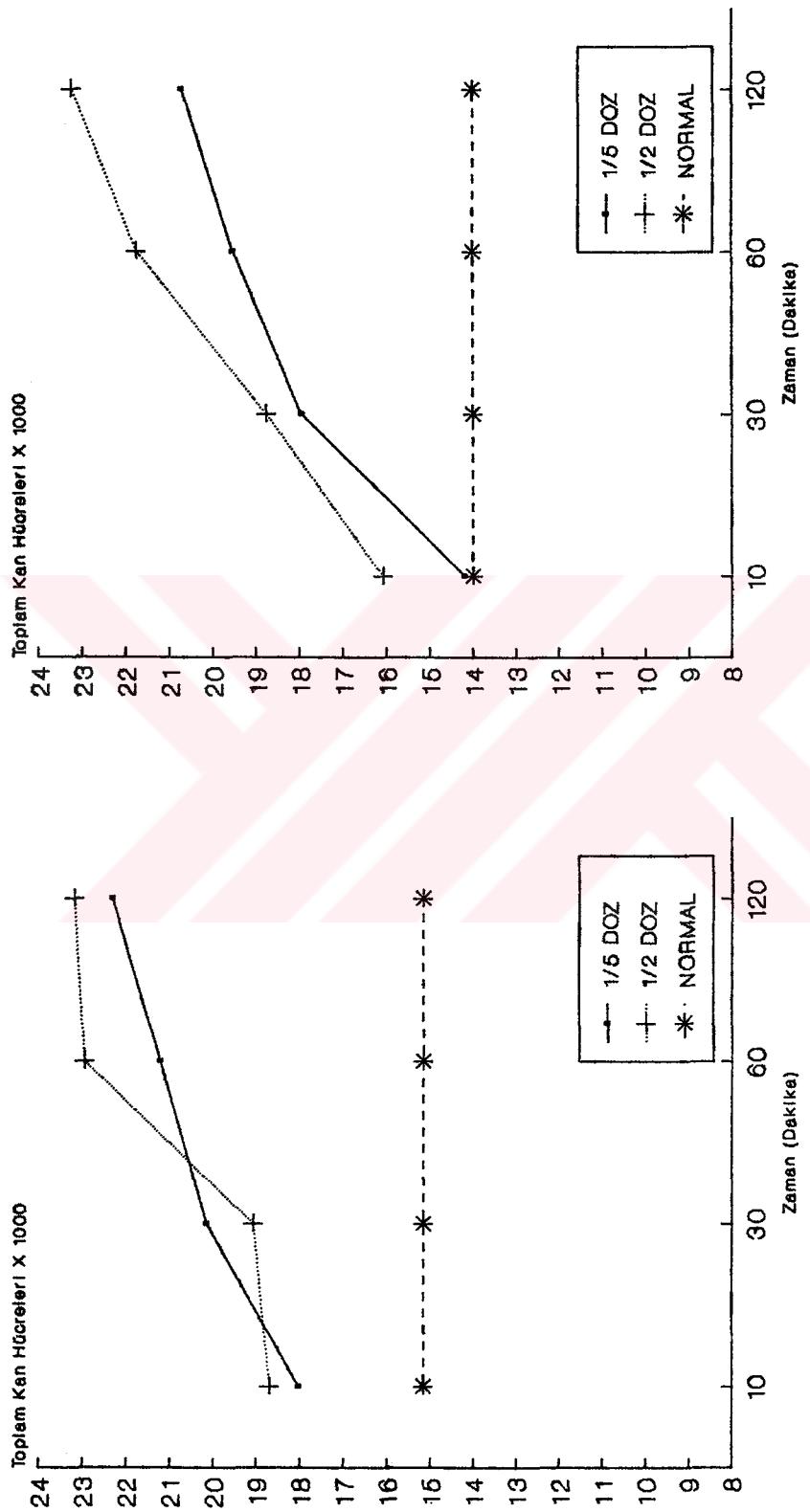
3.EVRE GEÇ SAFHA TOTAL HEMOSIT SAYISI



Şekil 3.3.6. Parazitli ve normal 3. evre orta ve geç safhadaki *A. segetum* larvalarının bakteri dozları aralıklarına göre total hemosit sayısı.

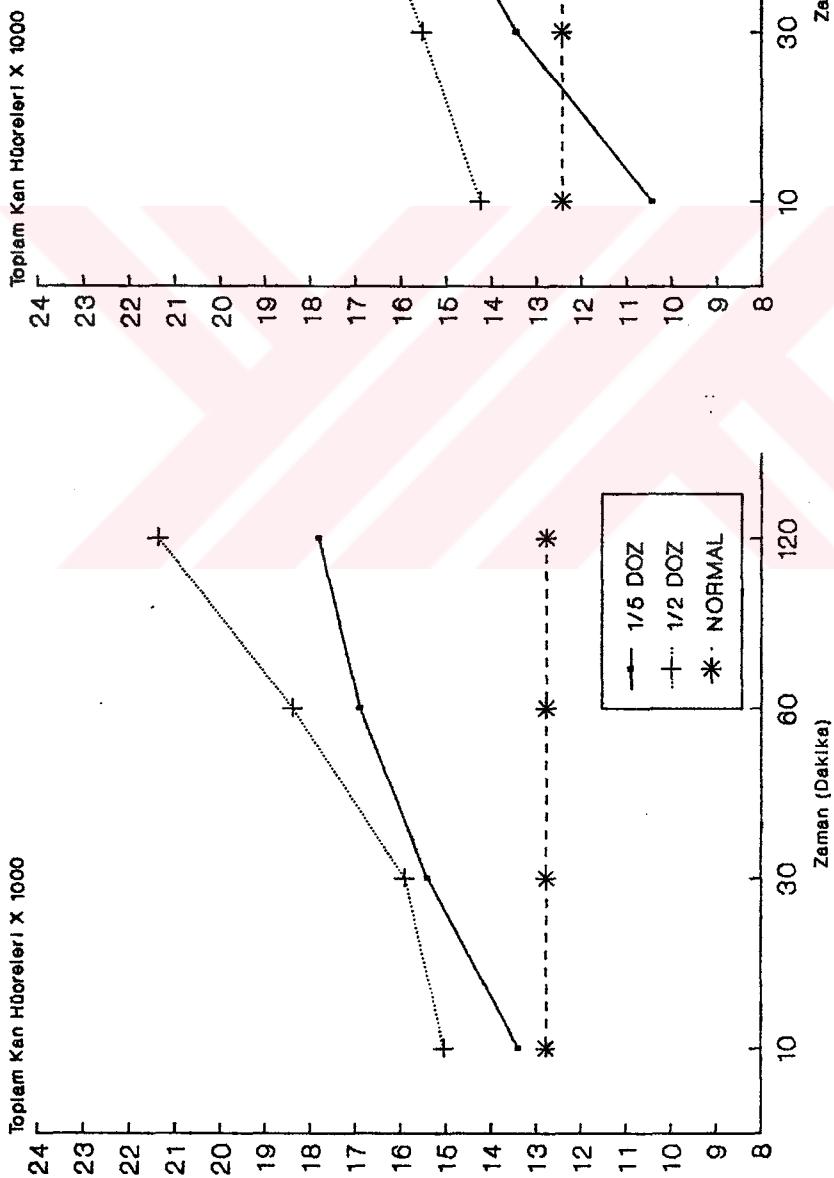
4.EVRE ERKEN SAFHA TOTAL HEMOSIT SAYISI

4.EVRE ORTA SAFHA TOTAL HEMOSIT SAYISI

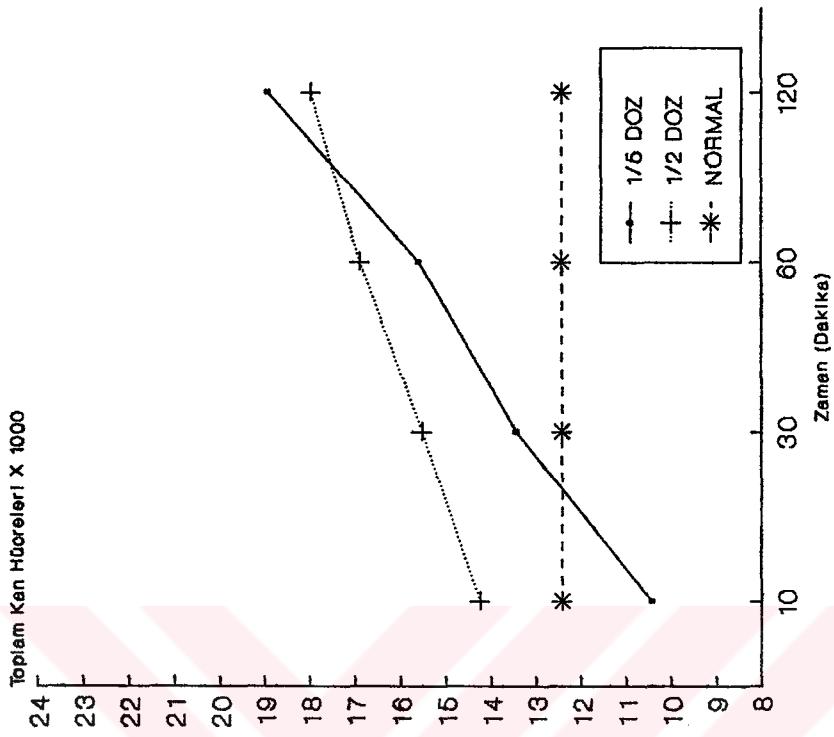


Şekil 3.3.7. Parazitli ve normal 4. evre erken ve orta safhadaki *A. segatum* larvalarının bakteri dozlarına ve zaman aralıklarına göre total hemosit sayısı.

4.EVRE GEÇ SAFHA TOTAL HEMOSİT SAYISI

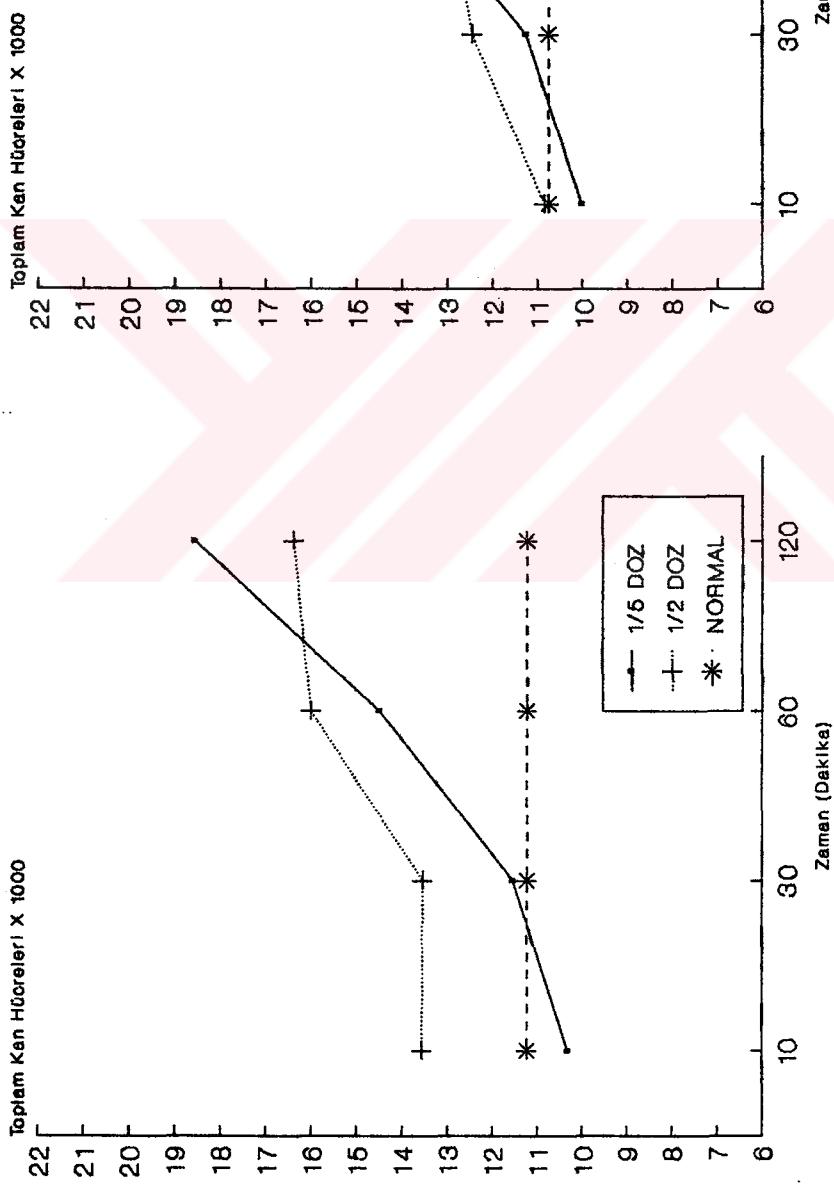


6.EVRE ERKEN SAFHA TOTAL HEMOSİT SAYISI

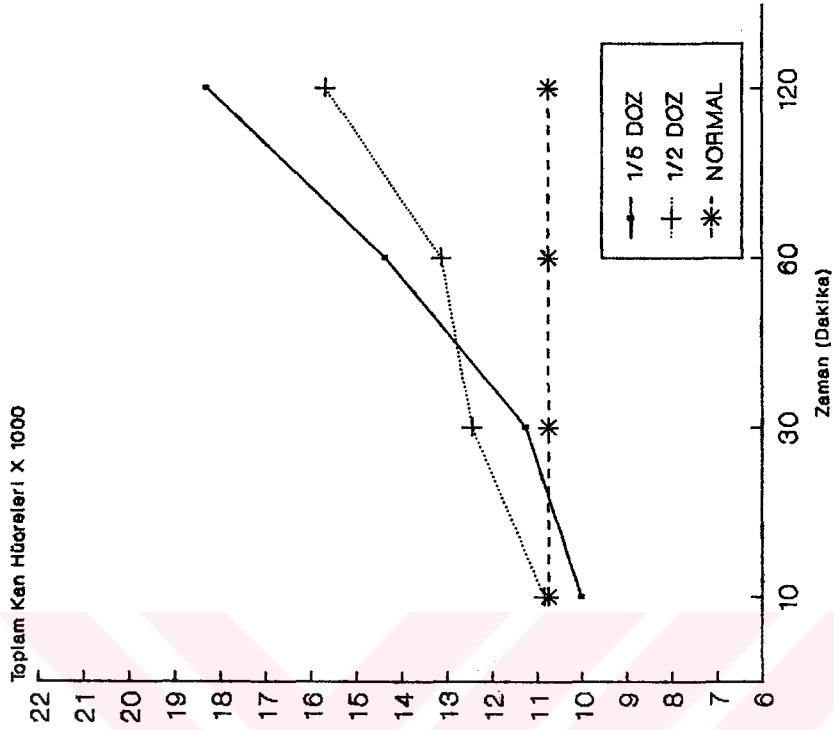


Sekil 3.3.8. Parazitli ve normal 4. evre geç safha ve 5. evre erken safhadaki *A. segetum* larvalarının bakteri dozlarına ve zaman aralıklarına göre total hemosit sayısı.

6.EVRE ORTA SAFHA TOTAL HEMOSİT SAYISI



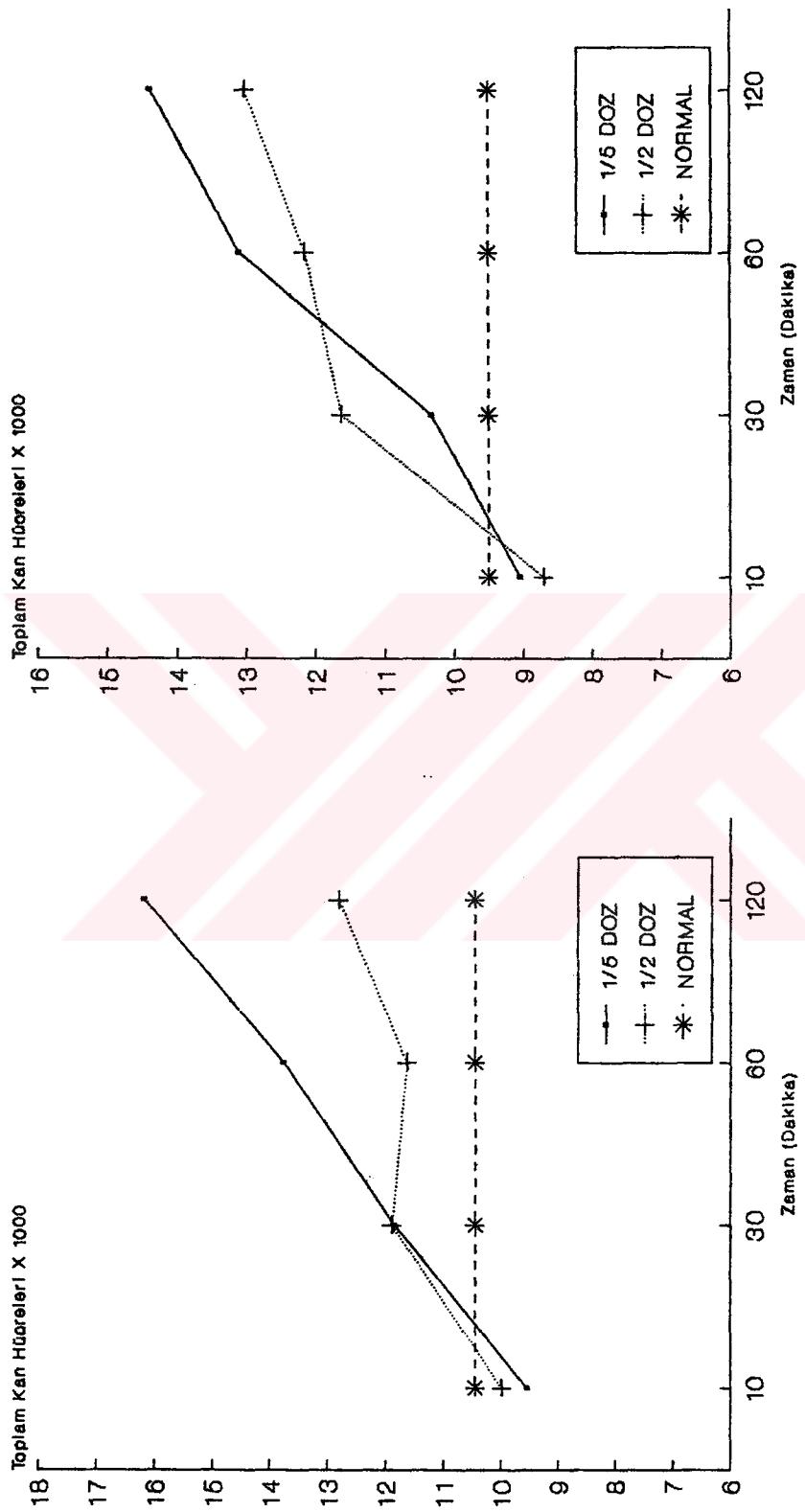
6.EVRE GEÇ SAFHA TOTAL HEMOSİT SAYISI



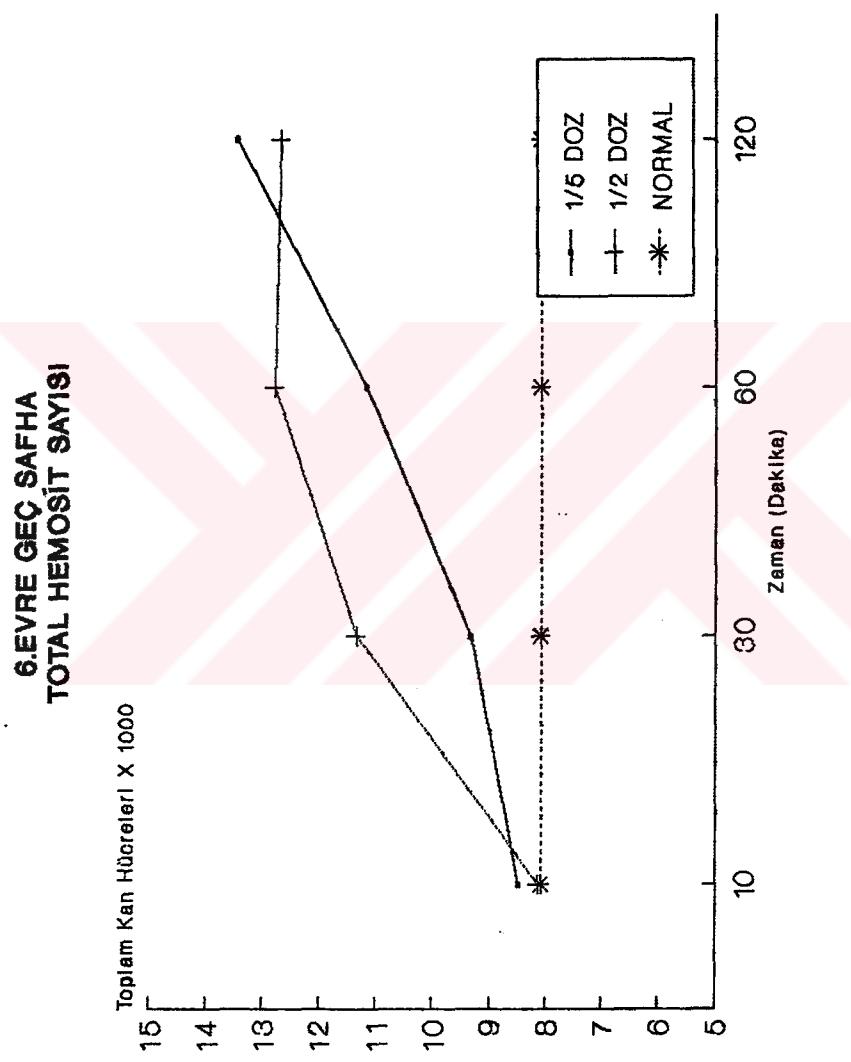
Şekil 3.3.9. Parazitli ve normal 5. evre orta ve geç safhadaki *A. segetum* larvalarının bakteri dozları aralıklarına ve zaman aralıklarına göre total hemosit sayısı.

**6.EVRE ERKEN SAFHA
TOTAL HEMOSİT SAYISI**

**6.EVRE ORTA SAFHA
TOTAL HEMOSİT SAYISI**



Şekil 3.3.10. Parazitli ve normal 6. evre erken ve orta safhadaki *A. segetum* larvalarının bakteri dozları aralıklarına ve zaman aralıklarına göre total hemosit sayısı.



Şekil 3.3.11. Parazitli ve normal 6. evre geç safhadaki *A. segetum* larvalarının bakteri dozlarına ve zaman aralıklarına göre total hemosit sayısı.

4. T A R T I Ş M A

A. segetum larvalarında bakteri dozlarına karşı nodül oluşumu enjeksiyondan 10, 30, 60 ve 120 dakika sonra gözlenmiştir. Ratcliffe ve Walters (1983) *B. cereus* bakterisinin μl 'de 10^1 oranındaki dozunu *G. mellonella* larvalarına enjekte ettiklerinde, enjeksiyondan uzun bir süre (24 saat) sonra nodül meydana gelmediğini gözlemişlerdir. Yine patojen olmayan *E. coli* bakterisinin μl 'de 10^1 dozuna larvaların nodül oluşturmadığı aynı araştırmacılar tarafından gözlenmiştir. Oysaki *A. segetum* larvalarında *B. thuringiensis* subsp. *berliner* suşunun μl 'de 10^1 dozları enjekte edildiğinde ilk 10 dakika içinde nodül oluşmasına neden olmuştur.

G. mellonella, *Phorbia brassicae*, *C. extradentatus* ve *Tenebrio molitor* larvalarında *B. cereus*, *E. coli*, *Sarcina lutea* bakterilerine karşı 1-5 dakika içinde nodül olduğu gözlenmiştir (Ratcliffe ve Rowley, 1979). *A. segetum* larvalarında ise *B. thuringiensis* subsp. *berliner* suşuna karşı ilk 10 dakikada nodül oluşturulmuştur.

Stoltz ve Guzo (1986), *M. disstria* larvalarına *Saccharomyces cerevisiae* (bira mayası) enjekte ettiklerinden 30 dakika sonra nodül meydana geldiğini gözlemişlerdir. *A. segetum* larvalarında da enjekte edilen bakteri dozlarına karşı 30 dakika sonra nodül meydana geldiği için *M. disstria* larvalarındaki nodül oluşumu ile benzerlik göstermektedir.

Guzo ve Stoltz (1987) *O. leucostigma* larvalarına bira mayaları olan *S. pombe* ve *S. cerevisiae* enjekte ettiklerinden 30 dakika sonra nodül meydana geldiğini ve total hemosit sayısında artışa neden olduğunu göstermişlerdir. Aynı şekilde *E. coli* ve *Pseudomonas maltophilia* (patojen olan) bakterileri enjekte edildiğinde de nodül oluştuğunu gözlemişlerdir. *A. segetum* larvalarında enjekte edilen bakteri dozlarına karşı nodül oluşturulması ve total hemosit sayılarındaki artış *O. leucostigma* larvalarıyla benzerlik göstermektedir.

Vinson (1971), *H. virescens* larvalarına *C. nigriceps* parazitini enjekte ettiklerinden ilk 3 gün sonra total hemosit sayısında herhangi bir değişikliğin olmadığını ancak 4. günden sonra azalma

olduğunu gözlemişlerdir. Parazitli *H.virescens* larvalarındaki total hemosit sayısındaki azalmaya karşı, parazitli *A.segetum* larvalarında total hemosit sayısında artış gözlenmiştir. Aynı araştırmacılar, *H.virescens* larvalarında enjeksiyondan ilk 3 gün sonra sferül hücre sayısında azalma olduğunu gözlemişlerdir. *A.segetum*'un parazitli larvalarında enjeksiyondan sonraki sürelerde sferül hücre sayısında azalma görüldüğü için *H.virescens* larvalarıyla benzer durum göstermektedir.

Gupta ve Sutherland (1968), klordan insektisitini *P.american*a'ya enjekte ettiklerinde total hemosit sayısında artışa neden olduğunu gözlemişlerdir. Ayrıca plazmatosit, graniilosit, sferül hücre ve sistosit hücrelerinin sayısının arttığını da gözlemişlerdir. *A.segetum*'un parazitli larvalarında plazmatosit ve graniilosit hücreleri sayılarında enjeksiyondan sonra artış görüldüğü halde sferül hücrelerin sayılarında azalma görülmüştür.

Narayanan ve Jayaraj (1973), *Papilio demoleus* (*Lepidoptera*)'-da larvadan pupa'ya geçiş esnasında total hemosit sayısında azalma olduğunu gözlemişlerdir. *A.segetum* larvalarında *P.demoleus*'da olduğu gibi larva yaşı ilerledikçe total hemosit sayısında azalma görülmüştür.

Ayvalı (1989), *A.ipsilon* larvalarında pupa dönemine doğru total ve differansiyel hemosit sayısında azalma olduğunu gözlemiştir. Aynı durum *A.segetum* larvalarında da görülmüştür.

Lackie ve arkadaşları (1985), abiyotik bir partikül olan ³H-İNÜLIN'i *S.gregaria* ve *P.americana* böceklerine aşıladıkları zaman plazmatositlerin sayısında (*S.gregaria*'da *P.americana*'ya oranla 3-4 kat fazla) artış olduğunu gözlemişlerdir. *A.segetum*'un parazitli larvalarında enjeksiyondan sonra plazmatositlerin sayısının artması *S.gregaria* ve *P.americana* böceklerindeki artış durumuna benzemektedir.

K A Y N A K L A R

- ARONSON, I.A., BECKMAN, W. ve DUNN, P., 1986. *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. Mikrobiological Reviews. 50(1):1-24.
- ASHIDA, M. ve DOHKE, K., 1980. Activation of pro-phenoloxidase by the activating enzyme of the silkworm, *Bombyx mori*. Insect Biochem. 10:37-47.
- AYVALI, C., 1989. Metamorfoz sırasında *Agrotis ipsilon* (Hufn.) (*Lepidoptera: Noctuidae*) hemositleri üzerine araştırmalar. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 1149. Bilimsel Araştırma ve İncelemeler. 636:1-20.
- BROOKMAN, J.L., RATCLIFFE, N.A. ve ROWLEY, A.F., 1988. Optimization of a monolayer phagocytosis assay and its application for studying the role of the prophenoloxidase system in the wax moth, *Galleria mellonella*. J.Insect Physiol. 34(4):337-345.
- DAVIES, D.H., STRAND, M.R. ve VINSON, S.B., 1987. Changes in differential haemocyte count and in vitro behaviour of plasmacytocytes from host *Heliothis virescens* caused by *Campoletis sonorensis* polydnavirus. J.Insect Physiol. 33(3):143-153.
- GEORGE, O., POINAR, JR. ve LEUTENEGGER, R., 1971. Ultrastructural investigation of the melanization process in *Culex pipiens* (Culicidae) in response to a nematode. J.Ultrastucture Research 36:149-158.
- GÖTZ, P. ve VEY, A., 1974. Humoral encapsulation in Diptera (Insecta): defence reactions of *Chironomus* larvae against fungi. Parasitology, 68:193-205.
- GÖTZ, P., ENDERLEIN, G. ve ROETTGEN, I., 1987. Immune reactions of *Chironomus* larvae (Insecta:Diptera) against bacteria. J.Insect Physiol. 33(12):993-1004.
- GUPTA, A.P. ve SUTHERLAND, D.J., 1968. Effects of sublethal doses of Chlordane on the hemocytes and midgut epithelium of *Periplaneta americana*. Annals. Ent. Soc. Amer. 53: 910-918.

- GUZO, D. ve STOLTZ, D.B., 1987. Observations on cellular immunity and parasitism in the tussock moth. *J.Insect Physiol.* 33(1):19-31.
- HUDDART, H., 1971. Contraction of Insect Muscle. In Kerkut, G.A. (Ed): *Physiology and Biochemistry*. Newyork Acad. Pr., IV:219-288.
- JONES, J.C., 1962. Current concepts concerning insect haemocytes. *Am.Zool.* 2:209-246.
- LACKIE, A.M., TAKLE, G. ve TETLEY, L., 1985. Haemocytic encapsulation in the locust *Schistocerca gregaria* (Orthoptera) and in the cockroach *Periplaneta americana* (Dictyoptera). *Cell Tissue Res.* 240:343-351.
- NARAYANAN, K. and JAYARAJ, S., 1973. Metamorphic changes in the haemocyte picture of the citrus butterfly, *Papilio demoleus* (L.) (Lepidoptera, Papilionidae). *Journal, Bombay Natural Hist. Society.* 73:283-286.
- PATTON, R.L., 1961. The detoxication function of insect hemocytes. *Ann.Ent.Soc.Amer.* 54:696-698.
- RATCLIFFE, N.A. ve ROWLEY, A.F., 1979. Role of hemocytes in defense against biological agents. In *Insect Hemocytes* (Ed. by Gupta, A.P.) pp.331-415. Cambridge University Press, London.
- RATCLIFFE, N.A. ve WALTERS, J.B., 1983. Studies on the in vivo cellular reactions of insects: clearance of pathogenic and non-pathogenic bacteria in *Galleria mellonella* larvae. *J.Insect Physiol.* 29(5):407-415.
- ROCKSTEIN, M., 1978. *Biochemistry of Insect*. pp.541-577. Academic Press, Newyork, San Francisco, London.
- ROWLEY, A.F. ve RATCLIFFE. N.A., 1981. Insect in Invertebrate Blood Cells (Ed. by Ratcliffe, N.A. and Rowley, A.F.), pp.421-488. Academic Press, New York.
- SCHMIT, A.R. ve RATCLIFFE, N.A., 1978. The encapsulation of Araldite implants and recognition of foreignness in *Clitumnus extradentatus*. *J.Insect Physiol.* 24:511-521.

- STOLTZ, D.B. ve GUZO, D., 1986. Apparent haemocytic transformations associated with parasitoid-induced inhibition of immunity in *Malacosoma-disstria* larvae. *J.Insect Physiol.* 32(4):377-388.
- VINSON, S.B., 1971. Defense reaction and hemocytic changes in *Heliothis virescens* in response to its habitual parasitoid *Cardiochiles nigriceps*. *J.Invertebrate Pathology*, 18:94-100.
- WALTERS, J.B. ve RATCLIFFE, N.A., 1983. Studies on the in vivo cellular reactions of insects: fate of pathogenic and non-pathogenic bacteria in *Galleria mellonella* nodules. *J.Insect Physiol.* 29(5):417-424.
- ZACHARY, D. ve HOFFMANN, D., 1984. Lysozyme is stored in the granules of certain haemocyte types in *Locusta*. *J.Insect Physiol.* 30(5):405-411.

W. G.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi