

# *Microsporidia* Karakterizasyonunda Morfolojik ve Ultrastrüktürel Özellikler

## Morphological and Ultrastructural Features in the Characterization of *Microsporidia*

Mustafa Yaman, Gönül Alçı, Beyza Gonca Güner

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Trabzon, Türkiye

### ÖZET

Mikrosporidia üyeleri ilkel tek hücreli ökaryotlar olup hepsi zorunlu hücre içi parazitlerdir. Omurgasız hayvanlardan omurgalı hayvanlara kadar geniş bir konak grubunu enfekte ederler. Bilim dünyasında Mikrosporidialar ile ilgili çalışmalar bu grubun farklı konak canlılar üzerinde oluşturdukları istenen enfeksiyonlar ve istenmeyen enfeksiyonlardan dolayı büyük bir ilgi odağı olmaktadır. Mikrosporidiaların bu enfeksiyonları onların teşhisi ve doğru karakterizasyonlarının titizlikle yapılmasını gerektirmektedir. Mikrosporidia grubundaki bir taksonun tür seviyesinde karakterizasyonu, diğer canlı gruplarına göre nispeten daha zor ve daha kompleks çalışmalar gerektirir. Bu canlı grubunun karakterizasyonunda morfolojik ve ultrastrüktürel çalışmalar önemli bir yer teşkil eder. Bu makalede, mikrosporidia teşhis ve karakterizasyonunda kullanılan morfolojik ve ultrastrüktürel karakterler orijinal örnekler ile desteklenerek verilmektedir.

(Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2015; 39: 52-9)

**Anahtar Sözcükler:** Mikrosporidia, morfoloji, ultrastrüktür, karakterizasyon

**Geliş Tarihi:** 20 Temmuz 2014

**Kabul Tarihi:** 8 Ekim 2014

### ABSTRACT

The members of the *Microsporidia* are single-celled, eukaryotic, obligate intracellular parasites. They infect a wide range of invertebrate and vertebrate hosts. The studies on *Microsporidia* are of considerable interest because of that they cause desirable and undesirable infections in different animals. That situation requires identification of these organisms correctly. The identification of *Microsporidia* needs relatively more complex studies. Morphological and ultrastructural studies play important role in the identification of these organisms. In the present study, a working knowledge on the morphological and ultrastructural features of *Microsporidia* are given. (Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2015; 39: 52-9)

**Keywords:** Microsporidia, morphology, ultrastructure, characterization

**Received:** 20 Temmuz 2014

**Accepted:** 8 Ekim 2014

### GİRİŞ

Mikrosporidia üyeleri ilkel tek hücreli ökaryotlar olup hepsi zorunlu hücre içi parazitlerdir (1, 2). Hücrelerinde mitokondri bulunmaz. Ökaryotik olmalarına karşılık, ribozomları 16S

ve 23S ribozomal RNA'lı 70S'lik prokaryotik karakterdedir (3). rRNA ve bazı spesifik genlerinin sekansları kullanılarak yapılan filogenetik analizler Mikrosporidia grubunun en ilkel ökaryotlar olduğunu ve bu grubun mantarlarla ilişkili üst grup organizmalar olduğunu göstermektedir (3-5).

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr. Mustafa Yaman, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Trabzon, Türkiye.

Tel: +90 462 377 25 86 E-posta: yaman@ktu.edu.tr

DOI: 10.5152/tpd.2015.3738

©Telif hakkı 2015 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org) web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2015 Turkish Society for Parasitology - Available online at [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org)

Bilim dünyasında *Mikrosporidialar* üzerine çalışmalar bu grubun farklı konak spektrumlarından dolayı hızla artmaktadır. *Mikrosporidia* grubu omurgasız hayvanlardan omurgalı hayvanlara kadar geniş bir konak grubunu enfekte eder. Böcekler, balıklar, kuşlar ve memeliler bu grubun enfeksiyon yaptığı canlı grupları arasındadır (6-9). Omurgasızların büyük bir çoğunluğuyla omurgalılara ait 5 sınıfın hepsi bu grubun konaklarını içermektedir (10-13). Arthropodlar ve balıklar *Mikrosporidia* grubu için en çok konak türünü içeren hayvan gruplarıdır. *Mikrosporidialar* ile ilgili çalışmalar bu canlılar üzerinde oluşturdukları (a) istenen enfeksiyonlar (14-22) ve (b) istenmeyen enfeksiyonlardan (7, 11, 12, 23, 24) dolayı büyük bir ilgi odağı olmaktadır.

*Mikrosporidiaların* tarım ve ormancılıktaki zararlı böcekler ile tıbbi açıdan problem oluşturan vektör böceklerde oluşturdukları enfeksiyonlar istenen ve arzulanan enfeksiyonlar olup, bu böcekler ile biyolojik mücadelede kullanıma potansiyelleri her gün artan bir potansiyelle araştırılmaktadır. Enfekte olmuş böcekler uyuşuk, durgun ve normalden daha küçük olabilir (25). Bazen de bu semptomlara iştahsızlık ve üremede azalma ile kabuk değişti-rememede eşlik eder. Enfeksiyon seviyesinin yüksek olduğu durumlarda bu semptomlar ölümle sonuçlanır. Bu tip enfeksiyonun önemli bir avantajı zayıf ve hassas böceklerin elverişsiz ve kötü hava şartları ile diğer ölüm faktörlerine karşı daha hassas duruma gelmeleridir. *Nosema pyrausta* (= *Perezia pyraustae*) önemli bir doğal kontrol ajanı olabileceği mısır kurdu *Ostrinia nubilalis*'i de kapsayan birçok böcek türünü enfekte eden bir *Mikrosporidiandir*. Enfeksiyon hastalıklı larvalardan sağlıklı larvalara değişik yollarla dağılır. *Nosema locustae* ticari olarak mevcut *Mikrosporidia* türüdür ve çekirge ve kriketlerin kontrolü için değişik isim ve markalar altında satılmaktadır. Böcek çekici yemler ile uygulanmaktadır. *Vairimorpha necatrix* ticari potansiyele sahip diğer bir mikrosporidiyumdur. *Heliothis zea*, *Ostrinia nubilalis*, *Spodoptera* türleri, *Hyphantria cunea* ve *Trichoplusia ni*'yi içeren zararlı tırtıllar arasında geniş bir konak spektrumuna sahiptir. Diğer türlerden daha etkili olabilir ve enfekte olmuş böcekler enfeksiyonun altıncı gününde ölebilirler (25).

*Mikrosporidiaların* yukarıda açıklanan böceklerdeki bu istenen enfeksiyonlarına karşılık bir o kadar da istenmeyen enfeksiyonları mevcuttur (23, 24). Bal arılarında nosemosis ve ipek böceklerinde pebrin olarak bilinen enfeksiyonları kayda değer oranda ekonomik kayıplara neden olmaktadır (26-28). Yine zararlı böcekler ile biyolojik mücadelede kullanılan faydalı predatör böceklerde oluşturdukları enfeksiyonlar bu mücadeleyi sekteye uğratmaktadır (23, 24).

Omurgalı hayvanlardan balıklarda oluşturdukları enfeksiyonlarda istenmeyen ve problem teşkil eden enfeksiyonlardır. Hayvanlardaki bu geniş konak dağılımının yanında insanlarda oluşturdukları enfeksiyonlar başlı başına bir problemdir. *Encephalitozoon cuniculi* memelilerin *Mikrosporidia* grubu orjinali klasik parazitidir (13). Yediden fazla mikrospor türü insanlarda enfeksiyon yaparken, bunlardan özellikle iki tür, *Enterocytozoon bieneusi* ve *Encephalitozoon intestinalis* insanlarda gastrointestinal hastalıklarla ilgilidir (11). *Enterocytozoon bieneusi* AIDS hastalarında rastlanılan ilk *Mikrosporidia* iken, aynı zamanda en çok karşılaşılan türdür (12).

*Mikrosporidiaların* yukarıda açıklanan bu istenen ve istenmeyen enfeksiyonları onların teşhisi ve doğru karakterizasyonlarının titiz-

likle yapılmasını gerektirmiştir. *Mikrosporidia* grubundaki bir taksonun tür seviyesinde karakterizasyonu, diğer canlı gruplarına göre nispeten daha zor ve daha kompleks çalışmalar gerektirir. Geniş cins sayısı, oldukça farklı hayat safhaları, mikrometre derecesindeki hacimleri, oldukça geniş ve farklı canlı gruplarında enfeksiyon oluşturmaları karakterizasyonu zorlaştıran başlıca etmenlerdir (25). Bu nedenle geçmiş yıllarda *Mikrosporidia* türlerinin sistematığı üzerine yapılan çalışmalar yanlış teşhislerle sonuçlanmış ve gereksiz yeni tür tanımları kaydedilmiştir. Geçmişte yetersiz ve eksik çalışmalar sonucunda birçok çalışma yeni tür kaydı ile sonuçlanmıştır (8). Özellikle sadece ışık mikroskobuna dayanılan çalışmalar sonucu elde edilen sonuçların güvenilirliği çok net değildir. Bu duruma en güzel örnek *Nosema* cinsi üzerine yapılan sistematik çalışmalarda ortaya çıkmaktadır. Tanımlanan 800 kadar mikrosporidium türünün 200 tanesi *Nosema* cinsine dahil edilmiştir (1). *Nosema* cinsine ait türlerde gözlenen bu artış, muhtemelen yanlış teşhislerden kaynaklanmaktadır. Bazen de bu durumun tersi olmuş, önceleri *Pleistophora* cinsine dahil edilen bir çok türün, tekrar incelenmesi sonucu bu cinsten bir çok yeni cinsler oluşturulmuştur. *Mikrosporidia* grubu üzerindeki bu yanlış teşhislerin temel nedenlerinin başında elektron mikroskobu tekniklerinin kullanılmayıp gelmektedir. *Mikrosporidia* türlerinin teşhisinde kullanılan karakterlerden en az bir tanesi elektron mikroskobundan elde edilmelidir (29-31). Günümüzde moleküler çalışmaların hız kazanmasıyla, moleküler teknikler tür teşhislerinde kesin sonuç verse de (32), bu tekniklerin kullanılması için de bilinmeyen bir mikrosporidiyum enfeksiyonunun en azından cins seviyesine kadar mikroskobik (ışık ve elektron mikroskobu) çalışmalar ile tanımlanması gerekir. Özellikle ülkemizin biyolojik zenginliği göz önüne alındığında yeni *Mikrosporidia* türlerinin tespiti mümkündür. Son zamanlarda ülkemizden tanımlanan yeni mikrosporidia türleri bu fikri desteklemektedir (14, 16, 19, 22-24). Bu alanda çalışacak diğer bilim adamlarının mikrosporidia karakterizasyonunda kullanacağı yöntemler bu açıdan da önemlidir. Burada mikrosporidia grubu bireylerin sistematikteki yerlerinin belirlenmesinde mikroskobik çalışmalar konusunda bilgi verilmektedir. *Mikrosporidialar* üzerine mikroskobik çalışmalar ışık ve TEM mikroskopları ile yapılmaktadır.

### Mikroskobik Çalışmalar

Geçmişte *Mikrosporidiaların* tespiti ışık mikroskobuyla başlamış ve uzun bir süre böyle devam etmiştir. Bu süreçte ışık mikroskobuyla yapılan tespitler bazen yanlış tür teşhislerine ya da bilinen türlerin sinonimlerinin doğmasına neden olmuştur. Elektron mikroskobunun yaygınlaşmasıyla bu organizmaların tespitinde daha doğru teşhisler yapılmaya başlanmıştır (29, 30, 31). Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yüzey morfolojilerinin incelenmesinin yanı sıra özellikle geçirimli elektron mikroskobu ile (TEM) *Mikrosporidiaların* tüm hayat safhaları hücresel seviyede detaylı bir şekilde incelenerek doğru tür teşhisleri yapılmıştır (25, 28-31). Ancak günümüzde hızlı tespit ve inceleme imkânı sağlaması açısından ışık mikroskobu teknikleri hala kullanımda fayda sağlamaktadır.

### Işık Mikroskobu Çalışmaları

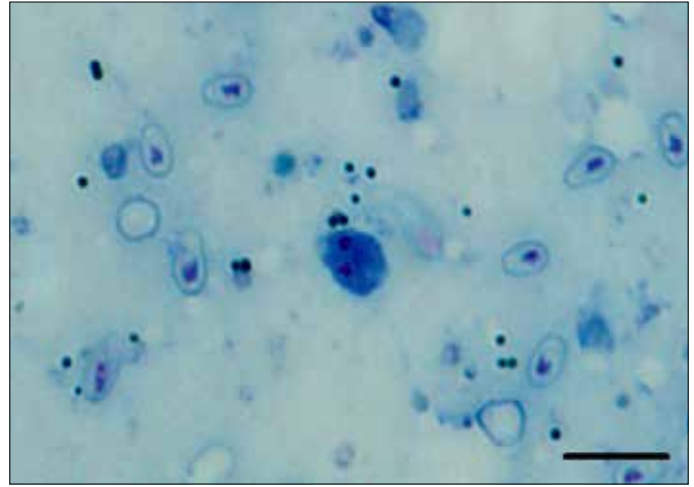
*Mikrosporidialar* ile ilgili çalışmalarda ilk tespitler ışık mikroskobu altında taze ya da boyalı örneklerin incelenmesiyle başlar. İnceleme süresince hayat safhalarının tespitini yapabilmek için temel hayat safhaları hakkında bir bilgiye sahip olmak gerekir.

*Mikrosporidialar* büyüme ve bölünme (merontlar ve sporontlar) safhaları ve sporlar olarak varlıklarını sürdürürler. Sporlar bir konaktan diğer konağa taşınımında kullanılırlar. İnceleme süresince, meront, sporont, sporoblast ve spor safhaları tespit edilmesi gereken önemli safhalardır (14-17). Bu safhalarda şekil, ebat, morfoloji ve çekirdek sayısı gibi karakterler incelemede konu olan karakterlerdir. Genel olarak bir mikrosporun enfeksiyonu spor içinde sporoplazmanın konak hücreye nakli ile başlar. İlk üreme fazı merogoni olarak adlandırılır. Sporoplazma konak hücrede merontları oluşturur (31). Meront, merogonial üremedeki ana hücredir. Merontun şekli, boyutları, sahip olduğu çekirdeğin özelliği karakterizasyonda türler arası karşılaştırmada kullanılır. Işık mikroskobundan merontu diğer hayat safhaları olan sporont ya da sporoblasttan ayırmak zordur. Ancak giemsa boyası gibi basit boyama teknikleri kullanıldığında merontlar sade plazma zarından dolayı daha fazla boyanın hücre içine nüfuz etmesi sonucu daha koyu boyanırlar ve daha büyük çekirdekle kolayca ayırt edilebilirler (Resim 1). Oysa sporontlar ve sporoblastlar plazma zarının etrafındaki ilave tabakalardan dolayı sitoplazmaya fazla boya geçişine mücadele etmezler ve daha açık renkte görünürler. Meront bir sporoplazma ya da bir merositden gelişir. Meront merogoni olarak bilinen üreme şekliyle vejetatif bir şekilde çoğalır. Bu çoğalma çoğu zaman merogonial üremede çok çekirdekli bir safha olan merogonial plasmodiumlar önemli rol oynar (Resim 2). Oluşan merontlar sporogonial üremede ana hücre olan sporontlara dönüşür (Resim 3). Sporontların şekli, boyutları karakterizasyonda türler arası karşılaştırmada kullanılır (22). Sporontlar kalın hücre duvarıyla merontlardan ayırt edilir. Sporogonial üremede sporontlar sporogoninin son bölünme ürünü olan sporoblastlara dönüşür (Resim 4). Sporoblast yuvarlak, oval, tüp şekilli veya düzensiz şekilli bir hücre olup, bölünme geçirip geçirmeyeceği, boyutları ve çekirdek sayısı teşhiste önem arz eder (31). Sporoblastlar olgunlaşarak sporlara dönüşür. Spor, gelişimin en son safhasıdır (Resim 5). Kalın bir hücre duvarına sahiptir.

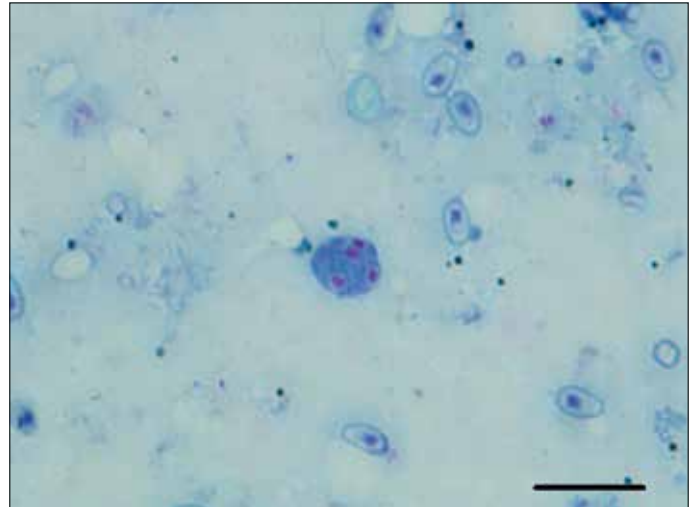
Yukarıda bahsettiğimiz *Mikrosporidiaların* hayat safhalarının sahip oldukları çekirdek sayısı teşhiste önemli bir karakterdir (31). Işık mikroskobu incelemelerinde çekirdek sayıları meront, sporont ve sporoblast için taze preparatlarda tespit edilebilirken spor safhalarında sadece boyalı preparatlarda tespit edilebilir (Resim 6). Güvenilir bir tespit için tüm safhaların boyalı preparatlarının da incelenmesi daha uygundur. Ancak sporun kalın bir hücre duvarına sahip olmasından dolayı çekirdeklerin boyanabilmesi için boyama öncesi bazı kimyasallarla hidrolize edilmesi gerekebilir. *Mikrosporidia* çekirdekleri ya izole ya da birleşmiş bir şekilde (diplokarya) bulunur. Sporlar ya tek çekirdekli (monokaryotik) ya da iki çekirdekli (diplokaryotik) (31).

Sporlar farklı şekillerde ve boyutlarda olup cinslerin teşhisinde önem arz eden safhadır. Bir cinsin bütün türleri benzer bir spor şekline sahiptir. Genelde spor şekilleri küresel, silindirik, priform (armut şeklinde), fusiform (iğ biçiminde), üçgen şekilli, çubuk şekilli, kovan şekilli, çan şekilli olabilir (31). Bazen de gözlenen spor şeklini bilinen şekillere yerleştirmek zor olur.

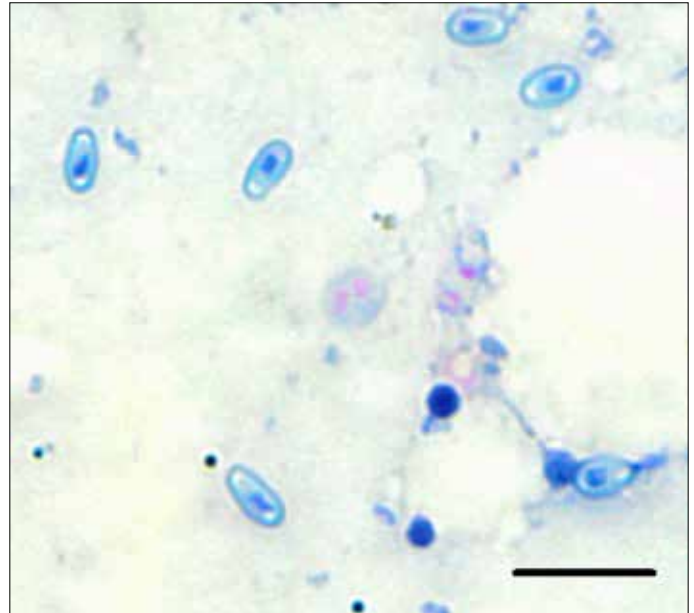
Sporun sahip olduğu boyutlar da teşhiste önem arz eder. Bu nedenle ışık mikroskobu altında hem taze preparatlarda hem de boyalı preparatlarda sporların en ve boylarının ayrı ayrı ölçülmesi gerekir. Ölçümlerde en az 50 örnek ele alınmalıdır. Ölçümler



Resim 1. Meront, bar: 10µm (Orijinal)

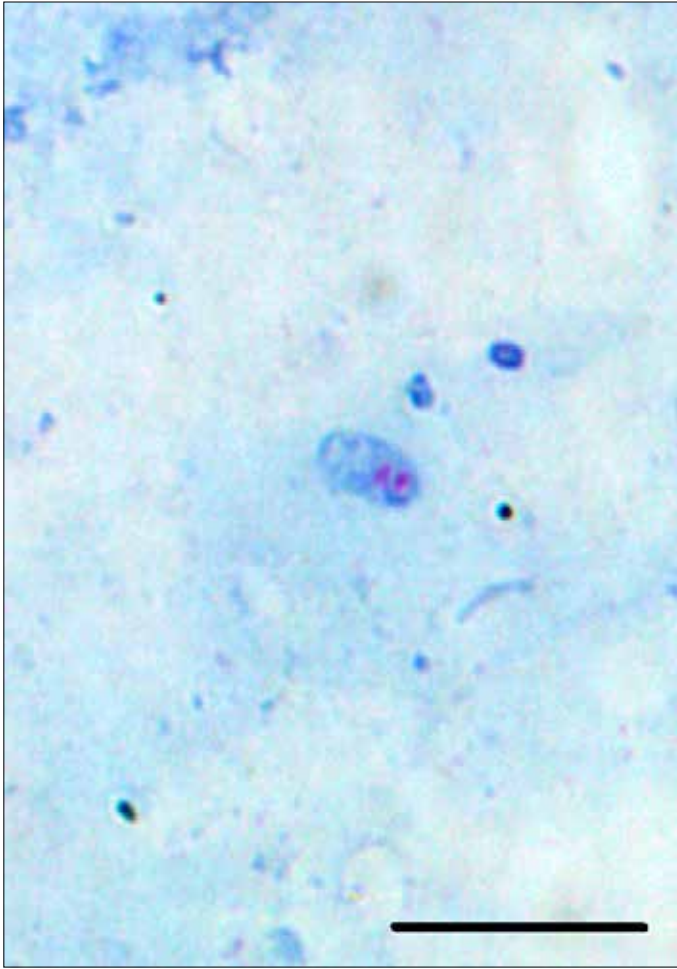


Resim 2. Çok çekirdekli plazmodial safha, bar: 10µm (Orijinal)

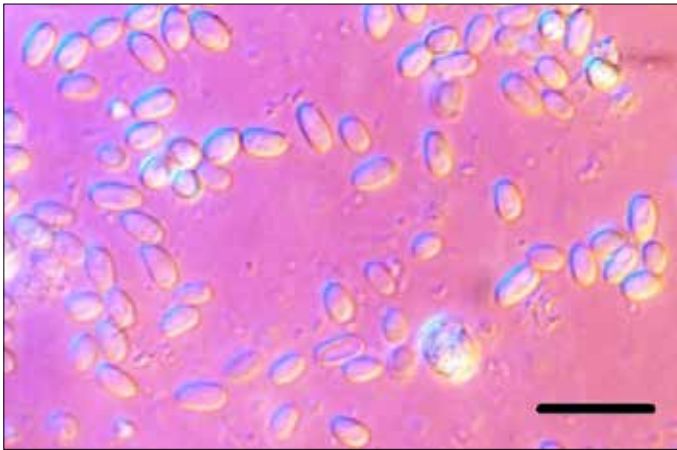


Resim 3. Sporont, bar: 10µm (Orijinal)





**Resim 4.** Sporoblast, bar: 10µm (Orijinal)

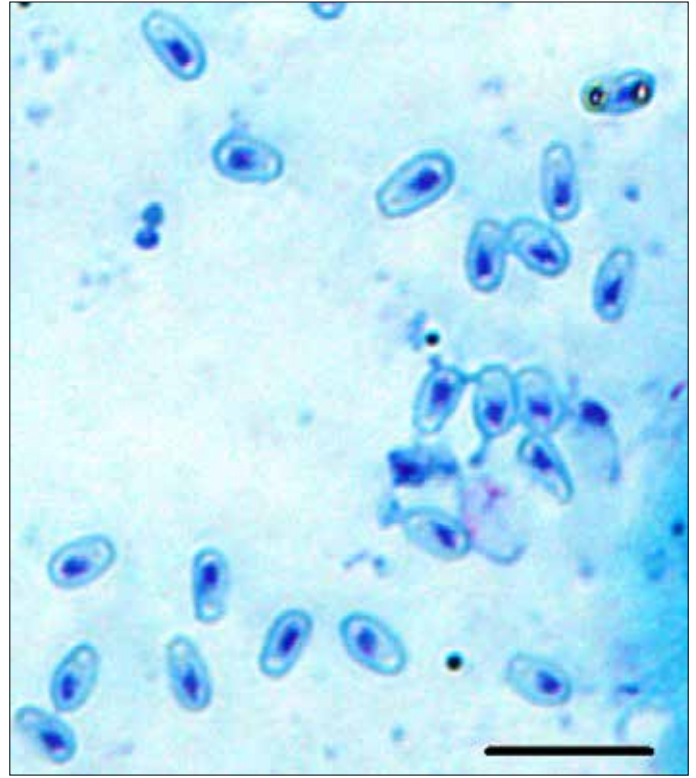


**Resim 5.** Serbest spollar, bar: 10µm (Orijinal)

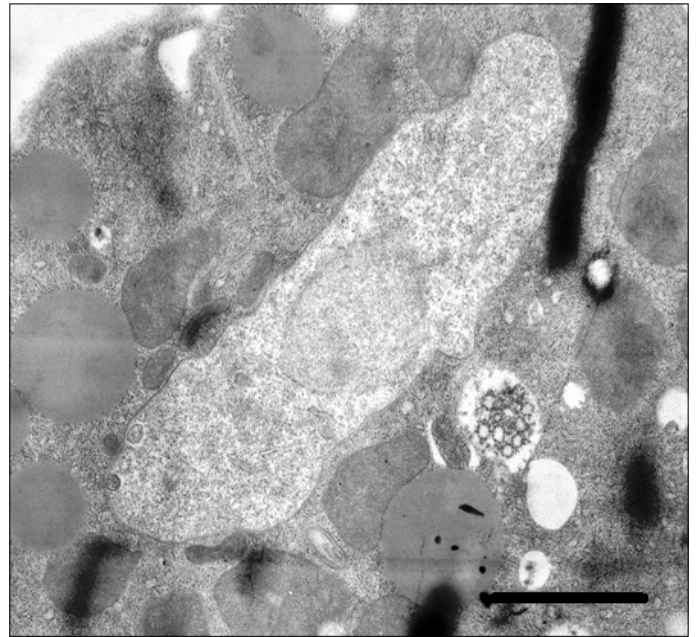
sonucunda ortalama, standart sapma, en küçük ve en büyük değer bulunmalıdır (25). Işık mikroskobu çalışmaları tamamlandıktan sonra, mikrosporun morfolojik ve ultrastrüktürel yapısının incelenmesi için elektron mikroskobu teknikleri kullanılır.

#### **Elektron Mikroskobu Çalışmaları**

*Mikrosporidiaların* incelenmesi daha çok geçirimli elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak yapılmaktadır. Zaman zaman SEM

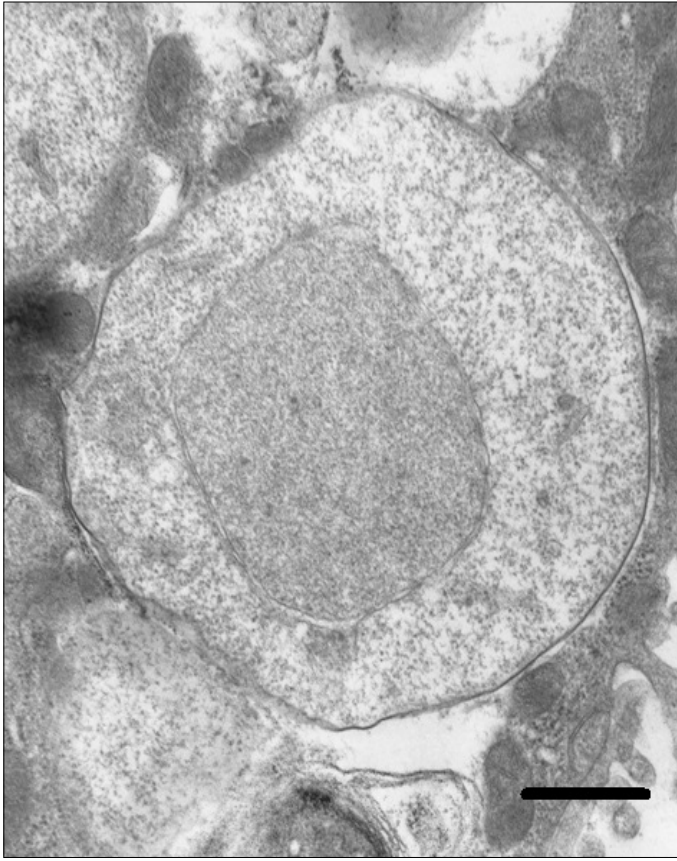


**Resim 6.** Giemsa boyalı spollar, bar: 10µm (Orijinal)



**Resim 7.** Meront, bar: 500 nm (Orijinal)

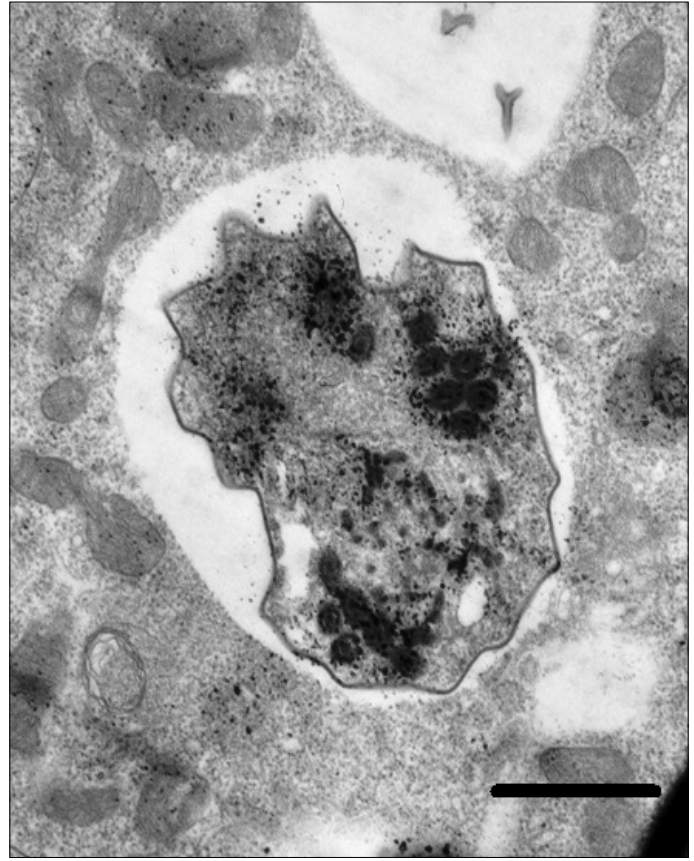
mikroskobu incelemeleri dış morfolojisini incelemek için kullanılsa da elde edilen sonuçlar taksonomik açıdan çok fazla değer taşımadığı için bu yöntem her zaman başvurulmaz. TEM mikroskobu çalışmalarında *mikrosporidiaların* tüm hayat safhaları incelenir, karakteristik özellikleri belirlenir, taksonomik açıdan değerli sonuçlar aydınlatılarak yakın taksonlara ait karakterler ile karşılaştırılmalı verilir. Meront, sporont, sporoblast ve spor safhalarına ait



**Resim 8.** Sporont, bar: 500 nm (Orijinal)

yapısal özellikler detaylı bir şekilde incelenir. Bir mikrosporidiyuma ait spordan konak hücreye enjekte edilen sporoplazmanın olgunlaşmasıyla oluşan merontlar morfolojik olarak ayırt edilebilir. Çoğu zaman yuvarlak ya da oval şekilli hücrelerdir. Merontlar bir çekirdekli ya da birbirine bitişik iki çekirdekli basit hücrelerdir. Sitoplazmaları granüllü olup çok az gelişmiş endoplazmik retikulum (ya da hiç bulunmaz), çok sayıda serbest ribozom ve bir ilkel tipik olmayan Golgi içerirler (17, 22, 23). Mitokondri yoktur. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) incelemelerinde çift zar bulunduran çekirdek sitoplazmadan ayırt edilebilmelidir (Resim 7). Bu durum merontun monokaryon ya da diplokaryon olduğunu belirleme açısından önemlidir.

Merogoni safhasının sonunda elektronca yoğun materyal örtüsü merontun plazma membranının dış kısmında birikmeye başlar ve böylece merontlar sporontlara dönüşür. Sporontlar kalın hücre duvarıyla merontlardan ayrılırlar. Sporont sitoplazmasında çekirdeğin etrafında yoğun endoplazmik retikulum kesecikleri bulunur (Resim 8). Golgi aparatı meronta kıyasla daha belirgindir. Çift zarlı çekirdek ve çekirdek özelliği bu safhada da önem arz eder (14, 18, 29). Sporontlar bölünerek ve gelişerek sporoblastları oluşturur. Sporoblast etrafındaki kalın duvar daha da yoğunlaşmaya ve kalınlaşmaya başlar ve spora ait fırlatma aparatı bu safhada gelişmeye başlar. Genel olarak spora ait organellerin birçoğu bu safhada oluşur. Özellikle mikrosporlar için karakteristik olan polar filament oluşumuna ait ilk bulguların gözlenmesi bu safhanın sporoblast olduğunu teyit etmede önemlidir (Resim 9) (29-31). Sporoblastlar olgunlaşarak olgun sporu oluştururlar (Resim 10).



**Resim 9.** Sporoblast, bar: 500 nm (Orijinal)

*Mikrosporidialar* da spor safhası elektron mikroskobu ile incelemelerde en önemli safha olup taksonomik açıdan değerli yapılar bu safhada gözlenir.

### Spor Yapısı

*Mikrosporidia* türlerinin sistematüğinde mikroskobik çalışmalar yapılırken en kayda değer sonuçlar spor yapılarının elektron mikroskobu çalışmalarından elde edilir. Yakın zamana kadar elektron mikroskobu kullanılmadan yapılan taksonomik çalışmaların büyük bir kısmı gereksiz yeni tür teşhisleriyle sonuçlanmıştır. Taksonomistler bu durumdan oldukça muzdarip olup en azından bir karakterin elektron mikroskobu çalışmalarından elde edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir (2, 17, 22, 29).

Sporlar kendilerine özgü ayrıntılı yapılarıyla tek hücreli bağımsız varlıklardır. Spor hacmi sitoplazma ve bir veya iki çekirdek ile doldurulur. Bunlara spor germinasyonu için gerekli olan polar filament (polar tüp) ve polaroplast ve posteriol vakuol gibi organeller eşlik eder. Sitoplazma ve çekirdek/çekirdekler enfeksiyon kabiliyetindeki formu (sporoplazma) oluşturur. Sporların elektron mikroskobu ile incelenmesinde çekirdek, spor duvarı, polar filament, polaroplast, spor kesesi gibi yapılar detaylı incelenir.

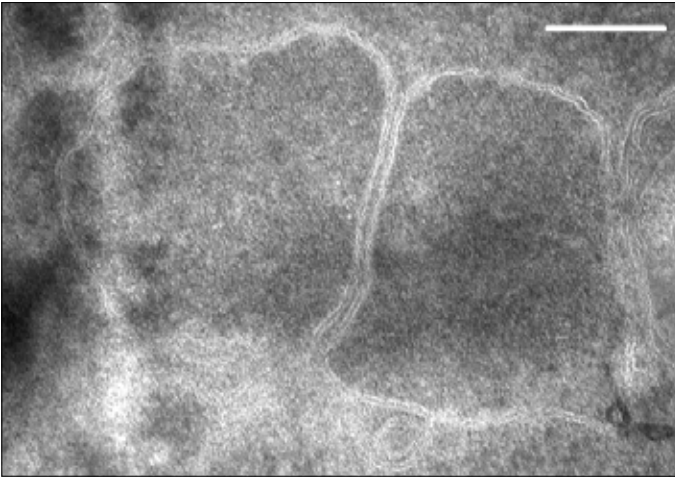
### 1. Çekirdek

Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak spor yapısının incelenmesi durumunda öncelikli olarak sporun çekirdek yapısı aydınlatılmalıdır. *Mikrosporidia* çekirdekleri ya izole ya da birleşmiş bir şekilde (diplokarya) bulunur. Sporlar ya tek çekirdekli (monokaryotik) ya da iki çekirdeklidir (diplokaryotik) (31). Bu

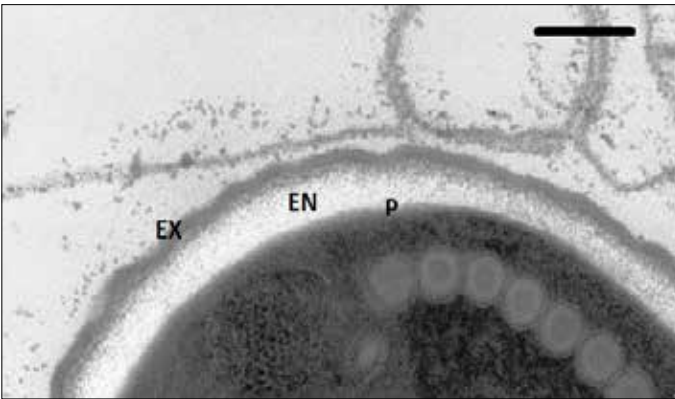




**Resim 10.** Bir sporun enine kesiti, bar: 1µm (Orijinal)



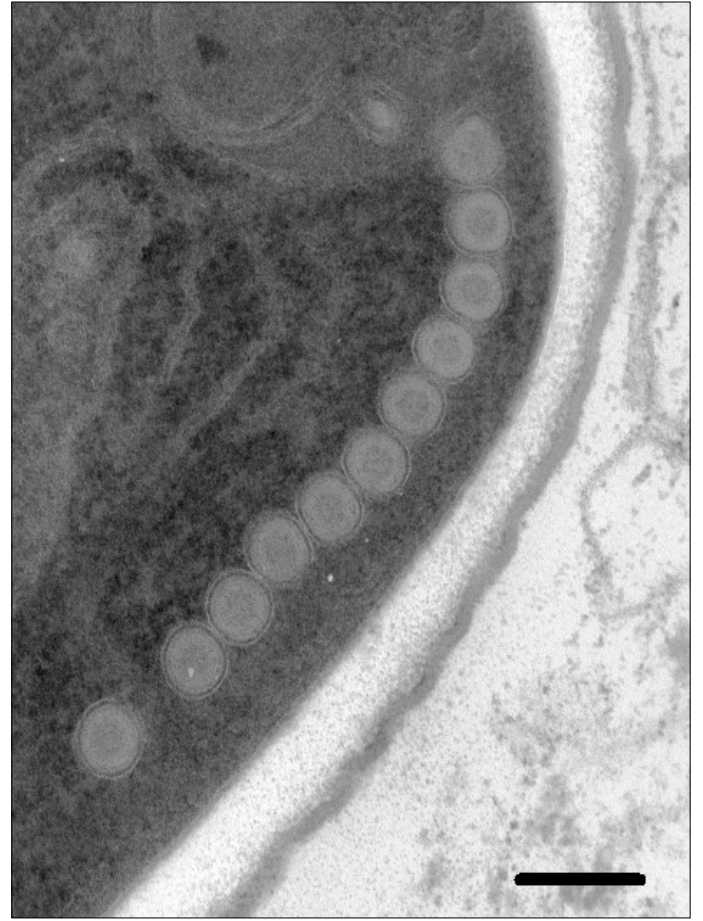
**Resim 11.** Diplokaryon çekirdek, bar: 50 nm (Orijinal)



**Resim 12.** Duvar yapısı, bar: 250 nm (Orijinal)

durumlardan hangisinin olduğunu doğru tespit etmek, öncelikle çekirdek zarının net bir şekilde tespiti ve çift zarlı çekirdeğin gösterilmesi ile mümkündür (Resim 11). Aksi durumlarda kofullar ya da polaroplast kıvrımlarının çevrelediği alanlar çekirdek olarak algılanır.

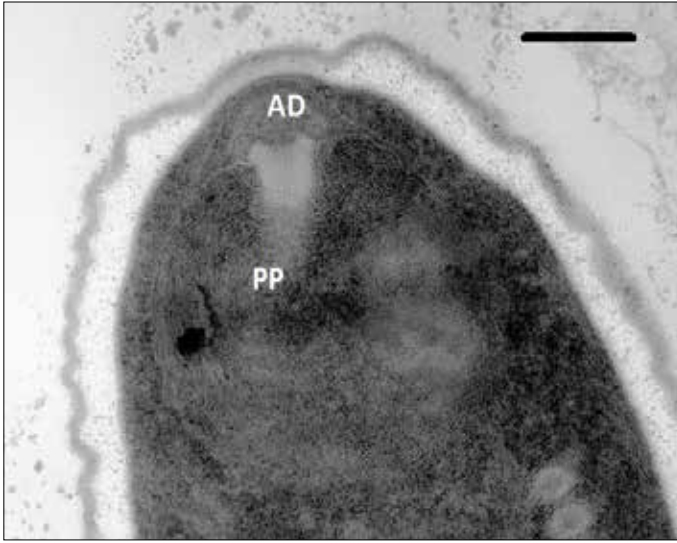
**2. Spor Duvarı:** *Mikrosporidialarda* spor duvarı genel olarak 3 tabakadan oluşur. Bunlardan birincisi (en içteki) plazma membra-



**Resim 13.** Polar filamentin enine kesiti, bar: 250 nm (Orijinal)

nıdır ve çoğu zaman spor duvarının bir elemanı olarak dikkate alınır. Spor duvarının bir elemanı olmadığı kabul edildiği durumlarda spor duvarının 2 tabakadan oluştuğu söylenir. İkincisi (ortadaki tabaka) kitinsi endospor olup özel bir yapıya sahip değildir. Elektron mikroskobu incelemelerinde bu yapı kalın, boş bir alan olarak gözükür. Üçüncü tabaka (en dıştaki tabaka) ekzospor olarak bilinir. Ekzospor cinsten cinsine değişen ve taksonomik açıdan değer taşıyan yapılara sahiptir (29-31). Bununla birlikte bazı cinsler düz ve sade bir ekzospora sahiptir. En basit ekzospor tek düze elektronca yoğun bir tabakadan oluşur ve elektron mikroskobu incelemelerinde en dıştan sporu çevreleyen koyu bir çizgi gibi gözükür (Resim 12). Spor duvarının kalınlığı aynı cins içindeki farklı türleri karşılaştırmada önem arz eder (14, 15, 22). Karşılaştırmada ekzospor ve endospor kalınlığı ayrı ayrı verildiği gibi ikisi birlikte spor duvarı kalınlığı şeklinde verilebilir.

**3. Polar Filament:** *Mikrosporidia* türlerine özgü olan polar filamentin yapısı spor içindeki kıvrım sayısı ve kıvrımın açısı taksonomik açıdan önemlidir. Elektron mikroskobu incelemelerinde sporun enine kesitlerinde (sporun tüm boyunu kapsayacak mümkün olduğunca ortadan kesitlerde) polar filamentler farklı tabakalardan oluşan enine halkalar şeklinde görülür. Birinci halkadan son halkaya doğru gidildikçe halkaların çapı (kalınlığı) hep aynı ise bu polar filamentin izofilar olduğu kabul edilir (Resim 13). Son halkalardan bir kısmının çapı önceki halkalardan daha küçük ise bu polar filamentin anizofilar olduğu söylenir (25). Polar filament-



**Resim 14.** Spor anteriörde polaroplast yapısı, bar: 500 nm (Orijinal)

lerin çapı da taksonomik karşılaştırmada kullanılır. Sporun bir tarafındaki başlangıç halkası hariç polar filament halkaları sayılarak o türe ait polar filamentin kaç halkadan oluştuğu tespit edilir (22, 24). Polar filament ön tarafta tüpün diğer kısmından ve az veya çok kıvrımlı bölge olan posterior kısmından nispeten daha kalın düz bir bölgeye (manubrial kısım) sahiptir. Polar filament anterior kısmın başında şemsiyeyi andıran ve "anchoring disc" olarak bilinen bir yapıya bağlanır (Resim 14). Tüpün ön kısmında ki düzgün bölüm polaroplast tarafından çevrilmiştir.

**4. Polaroplast:** Polaroplastın yapısı da ancak elektron mikroskopu altında incelenebilir. Bu kısım, birbirine yakın ya da dağınık olarak paketlenmiş membran bölgeleriyle tipik bir lamelli yapı şeklindedir. Bazı cinslerde bu kısım yapısal olarak farklılık gösterir. Bazı spesifik cinsler hariç çoğu *Mikrosporidia* cinsleri genelde iki bölümden oluşan (anterior bölgesi ve posterior bölgesi) ve mikroskop altında üst üste sıralanmış lameller şeklinde görünen polaroplastlara sahiptir (Resim 14). Lameller arası genişlik farklılık gösterebilir. Çoğu zaman posterior bölgesi daha geniştir. Hatta bazen posterior bölgesindeki lameller düzenli değil de çember ya da tüp şeklindedir. Bazı cinslerde ise polaroplastlar 3 farklı bölümden oluşabilir (29, 31). Bir mikrosporodiyum sporuna ait polaroplast incelenirken şu noktaya dikkat edilmelidir. Polaroplast spor içinde gelişen en son organeldir. Eğer inceleme anında spor duvarı özellikle endospor belirgin şekilde ayırt edilemiyor ise yani mevcut değil ise bu sporun olgunlaşmamış bir spor olduğu bu nedenle de polaroplastın tam gelişmediği düşünülmelidir (31). Polaroplastın karşı tarafında, sporun posterior kısmında, vakuol benzeri (posterior vakuol) alan mevcut olup çoğu zaman ışık mikroskopu altında da rahatlıkla görülebilir.

## SONUÇ

*Mikrosporidialar* üzerine yapılan çalışmalar ülkemizde yeni yeni ilgi odağı olurken, çalışılan organizmaların doğru tespiti ve karakterizasyonu büyük önem kazanmaktadır. Çalışmalarda en azından birkaç karakterin ultrastrüktürel karakterlerden oluşması kaçınılmazdır. Bu durum yanlış teşhisleri ve gereksiz yeni tür tespitlerini engelleyecektir. Bu nedenle bu alanda çalışan bilim

adamlarının bu bilgilerle donatılması, gerekli bilgi, deneyim ve tecrübeyi kazanmaları kaçınılmaz olmuştur.

## Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - M.Y.; Tasarım - M.Y., G.A., B.G.G.; Denetleme - M.Y.; Kaynaklar - M.Y., G.A., B.G.G.; Malzemeler - M.Y.; Veri toplanması ve/veya işlemesi - M.Y.; Analiz ve/veya yorum - M.Y.; Literatür taraması - M.Y.; Yazıyı yazan - M.Y., G.A., B.G.G.; Eleştirel İnceleme - M.Y., G.A., B.G.G.; Diğer - M.Y.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author Contributions:** Concept - M.Y.; Design - M.Y., G.A., B.G.G.; Supervision - M.Y.; Funding - M.Y., G.A., B.G.G.; Materials - M.Y.; Data Collection and/or Processing - M.Y.; Analysis and/or Interpretation - M.Y.; Literature Review - M.Y.; Writing - M.Y., G.A., B.G.G.; Critical Review - M.Y., G.A., B.G.G.; Other - M.Y.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Financial Disclosure:** The authors declared that this study has received no financial support.

## KAYNAKLAR

1. Sprague V. Microspora. Parker SP, editor. Synopsis and Classification of Living organisms. New York: McGraw-Hill; 1982. p. 589-94.
2. Undeen AH, V Avra, J. Research methods for entomopathogenic protozoa. Lacey LA, editor. Manual of Techniques in Insect Pathology. New York: Academic Press; 1997. p. 117-51.
3. Weiss LM, Vossbrinck CR. Molecular Biology, Molecular Phylogeny, and Molecular Diagnostic Approaches to the Microsporidia. Murray W, Louis MW, editors. The American Society of Microbiology. Washington DC; 1999. p. 447-501.
4. Vossbrinck CR, Maddox JV, Frideman S, Debrunner-Vossbrinck BA, Woese CR. Ribosomal RNA sequence suggests microsporidia are extremely ancient eukaryotes. Nature 1987; 326: 411-4. [CrossRef]
5. Fast NM, Logsdon JM Jr, Doolittle WF. Phylogenetic analysis of the TATA box binding protein (TBP) gene from *Nosema locustae*: evidence for a microsporidia-fungi relationship and spliceosomal intron loss. Mol Biol Evol 1999; 16: 1415-9. [CrossRef]
6. Becnel JJ, Andreadis TG. Microsporidia in insects. Murray W, Louis, MW, editors. The Microsporidia and Microsporidiosis. American Society of Microbiology. Washington DC: 1999. p. 447-501.
7. Franzen C, and Muller A. Microsporidiosis: human diseases and diagnosis. Microbes Infect 2001; 3: 389-400. [CrossRef]
8. Sprague V, Becnel JJ, Hazard EI. Taxonomy of phylum Microspora. Crit. Rev. Microbiol 1992; 18: 285-395. [CrossRef]
9. Canning EU. Microspora. Margulis L, Corliss JO, Melkonian M, Chapman D, Jones J, editors. Handbook of Protozoa. Boston: Bartlett; 1990. p. 53-72.
10. Canning EU, Vavra J. Phylum Microsporidia. Lee JJ, Leedale GF, and Bradbury P, editors. The Illustrated Guide to the Protozoa. Lawrence: Allen Press; 2000. p. 39-126.
11. Dowd SE, Gerba PC, Pepper IL. Confirmation of the Human-Pathogenic Microsporidia *Enterocytozoon bieneusi*,

- Encephalitozoon intestinalis, and Vittaforma corneae in Water. Appl Environ Microbiol 1998; 64: 3332-5.
12. Desportes-Livage I. Human microsporidiosis: New opportunistic infections. Rev Mex Patol Clin 1997; 44: 12-6.
  13. Wasson K. and Peper RL. Mammalian Microsporidiosis, Vet Pathol 2000; 37: 113-28. [\[CrossRef\]](#)
  14. Yaman M, Radek R. Nosema chaetocnema sp. n., a microsporidian (Microspora; Nosematidae) parasite of Chaetocnema tibialis (Chrysomelidae, Coleoptera). Acta Protozool 2003; 42: 231-7.
  15. Yaman M, Radek R, Aslan I, Ertürk Ö. Characteristic features of Nosema phyllotretae Weiser 1961, a microsporidian parasite of Phyllotreta atra (Coleoptera: Chrysomelidae) in Turkey. Zoological Studies 2005; 44: 368-72.
  16. Yaman M, Radek R, Toguebaye, B. A new microsporidian of the genus Nosema, parasite of Chaetocnema tibialis (Coleoptera: Chrysomelidae) from Turkey. Acta Protozoologica 2008; 47: 279-85.
  17. Yaman M, Radek R., Linde A, Özcan N, Lipa JJ. Ultrastructure, characteristic features and occurrence of Nosema leptinotarsae Lipa 1968, a microsporidian pathogen of Leptinotarsa decemlineata (Coleoptera: Chrysomelidae). Acta Parasitologica 2011; 56: 1-7. [\[CrossRef\]](#)
  18. Yaman M, Aslan İ, Radek R. Phyllotreta nigripens (Coleoptera:Chrysomelidae), a new host of Nosema phyllotretae (Microsporida) in Turkey. J Pest Sciences 2005; 78: 239-42. [\[CrossRef\]](#)
  19. Yaman M. and Radek R. A new microsporidian parasite record of Phyllotreta undulata (Chrysomelidae, Coleoptera). Turk J Zool 2005; 29: 67-9.
  20. Yaman M. Distribution of Nosema meligethi (Microsporida) in populations of Meligethes aeneus (Coleoptera: Nitidulidae) in Turkey. Entomological Research 2007; 37: 298-301. [\[CrossRef\]](#)
  21. Yaman M. First results on the distribution of Nosema chaetocnema (Microsporida) in the populations of Chaetocnema tibialis (Coleoptera, Chrysomelidae) in Turkey. Türkiye Parazit Derg 2008; 32: 94-8.
  22. Yaman M, Radek R, Weiser, J, Toguebaye, B. Unikaryon phyllotretae sp. n. (Protista, Microspora), a new microsporidian pathogen of Phyllotreta undulata (Coleoptera; Chrysomelidae). Eur J Protistol 2010; 46: 10-5. [\[CrossRef\]](#)
  23. Yaman M, Radek R, Tosun O, Ünal S. Nosema raphidia sp.n. (Microsporida, Nosematidae): A microsporidian pathogen of the predatory snake-fly Raphidia ophiopsis (Raphidioptera: Raphidiidae). Acta Protozoologica 2009; 48: 353-8.
  24. Yaman M, Radek R, Weiser J, Aydın Ç. A microsporidian pathogen of the predatory beetle Rhizophagus grandis (Coleoptera: Rhizophagidae). Folia Parasitol 2010; 57: 233-6. [\[CrossRef\]](#)
  25. Yaman M. Böcek Patolojisi Atlası. Trabzon; 2012.
  26. Higes M, Martín-Hernández R, Meana A. Nosema ceranae in Europe: an emergent type C nosemosis. Apidologie 2010; 41; 375-92. [\[CrossRef\]](#)
  27. Hornitzky MA. Honey bee diseases, Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedure 2010; July: 1-20.
  28. Singh RN, Dannel AG, Sridage SS, Kamble CK. Microsporidian infecting silkworm Bombyx mori L-A Rev. Sericil 2007; 46: 1-16.
  29. Larsson JIR. Ultrastructure, function, and classification of microsporida. Progress in Protistology 1986; 1: 325-90.
  30. Larsson JIR. Identification of microsporidian genera (Protozoa, Microspora) a guide with comments on the taxonomy. Archiv für Protistenkunde 1988; 136: 1-37. [\[CrossRef\]](#)
  31. Larsson JIR. Identification of microsporida. Acta Protozoologica, 1999; 38, 161-97.
  32. Hylis M, Weiser J, Oborník M, Jilí Vávra J. DNA isolation from museum and type collection slides of microsporida. J Invertebr Pathol 2005; 88: 257-60. [\[CrossRef\]](#)