

***Myotis myotis*' DE (CHIROPTERA: VESPERTILIONİDAE) İMLANTASYONUN HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

Emine Pınar PAKSUZ
Trakya Üniversitesi, Eğitim Fakültesi,
İlköğretim Bölümü, 22030 Edirne
e-mail: epinarpaksuz@trakya.edu.tr

Alınış: 08 Kasım 2010
Kabul Ediliş: 03 Mayıs 2011

Özet: Bu çalışmada, *Myotis myotis* türü yarasalarda implantasyon histolojik olarak ışık mikroskopunda (Olympus BX51) incelenmiştir. Dişi yarasa örnekleri Kırklareli' de bulunan Koyunbaba Mağarası'ndan yakalanmıştır. *Myotis myotis* türü yarasa örneklerinin uteruslarından alınan histolojik kesitler, Hematoksilen-Eosin (Mayer's), Gomori trichrome ile boyanmış ve incelenmiştir. *Myotis myotis*'de uterus bicornis' dir ve implantasyonun uterusun sağ boynuzunda gerçekleştiği gözlenmiştir. Embriyonik disk amnion boşluğunun taban kısmında yer almıştır. Trofoblast, sitotrofoblast ve sinsisyotrofoblast tabakalarına farklılaşmıştır.

Anahtar Kelimeler: Chiroptera, placenta, *Myotis myotis*, embriyo

Histological Investigation of Implantation in Myotis myotis (Chiroptera: Vespertilionidae)

Abstract; In this study, implantation in *Myotis myotis* was examined histologically by light microscopy (Olympus BX51). Individuals of female bats were captured from the Koyunbaba Cave in Kırklareli. Histological sections of uterus of *Myotis myotis* were stained with Hematoxylin-Eosin (Mayer's), Gomori trichrome and examined. We observed that *Myotis myotis* has a bicornuate uterus and implantation occurs in the right horn. Embryonic disc is located at the basal side of the amniotic cavity. Trophoblast differentiated to cytotrophoblast and syncytiotrophoblast.

Key words: Chiroptera, placenta, *Myotis myotis*, embryo

Giriş

Chiroptera oldukça büyük bir memeli takımıdır ve tür sayısı bakımından kemirgenlerden sonra gelen ikinci büyük grubu oluşturur (Koopman, 1993). Bu grup üreme stratejileri, morfoloji ve fizyolojilerinde çok geniş bir varyasyon gösterir. Farklı ekolojik ve çevresel koşullara uyum sağlamak için yarasalarda farklı üreme stratejileri gelişmiştir (Neuweiler, 2000). Bu stratejiler ile yavrular ve dişiler doğumun doğru zamanda meydana gelmesini sağlayarak, hayatta kalmak adına büyük bir avantaj sağlarlar. Gecikmiş ovulasyon ve döllenme (*Pipistrellus ceylonicus*) (Racey, 1979), gecikmiş implantasyon (*Rhinolophus rouxi*) (Rasweiler, 1993), embriyonik duraklama (*Artibeus jamaicensis*) (Altringham, 1996) ve sperm depolama, değişen çevre koşulları ile başa çıkmak için yarasalar tarafından kullanılan üreme stratejileridir. Bu üreme stratejilerini kullanan yarasa türlerinin çoğu Rhinolophidae ve Vespertilionidae familyalarına aittir (Racey, 1979). Pek çok yarasa türünde yapılan çalışmalar, embriyonun ovidukt yada uterus gelişimini (Rasweiler, 1993; Badwaik and Rasweiler, 2000), ve pek çok anatomik özelliğin postnatal gelişimini tanımlamıştır (Reep and Bhatnagar, 2000; Elangovan et al., 2007).

Memelilerde, döllenme ve embriyonun uterusu ilerlemesi ile bu olay ve implantasyon arasında önemli bir varyasyon vardır (Wimsatt, 1975). Chiroptera ordosunda uterusu implante olan embriyo genellikle bir iken, bazı gruplarda ise iki veya daha fazla olabilir (Kurta ve Kunz, 1987). Bicornuate uterusu sahip olan yarasa türlerinin bazılarında implantasyon her iki uterus boynuzunda da olabilirken, bazı türlerde ise sadece sağ ya da sol boynuzda gerçekleşmektedir (Wimsatt, 1979; Badwaik ve Rasweiler, 2000). Yarasalarda plasentaların konumlanmasında farklılık olduğu bildirilmiştir (Badwaik ve Rasweiler, 2000). Özellikle Microchiroptera grubu yarasalar endotheliochorial ve hemochorial plasentaya sahiptirler (Badwaik ve Rasweiler, 2000). Plasental bariyerde çok sayıda doku tabakası, fetal ve maternal kanı birbirinden ayırır (Enders, 1965). Marsupialler haricindeki diğer

memelilerde olduğu gibi, yarasalarda genellikle, unilaminar blastosistdeki primitif endoderm (hipoblast), iç hücre kitlesinin ventral yüzeyinden hücrelerin delaminasyonu ya da migrasyonu ile oluşur. Endoderm, blastosist boşluğunun interiorüne doğru vitellus kesesini oluşturarak yayılır. Böylelikle unilaminar blastosist, bilaminar hale dönüşmüş olur.

Plasenta, gelişimin intrauterin safhasında maternal-fetal madde değiş tokuşuna olanak sağlar. Bununla beraber, plasenta ve diğer fetal zarlar oldukça büyük bir çeşitlilik gösterirler (Mossman, 1937; Amoroso, 1952; Starck, 1959). Yarasalarda embriyo implantasyonu üzerine yapılan çalışmalar oldukça fazla tür varyasyonlarının olduğunu göstermiştir. Vespertilionidae, en büyük yarasa familyası olmasına karşın, bu familyaya ait *Myotis myotis* türü yarasa embriyolarının uterusu implantasyonu hakkında bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan bu çalışma çerçevesinde *Myotis myotis* türü dişilerinden elde edilen embriyolarda embriyonun uterusu implantasyonu histolojik olarak ışık mikroskopunda incelenmiştir.

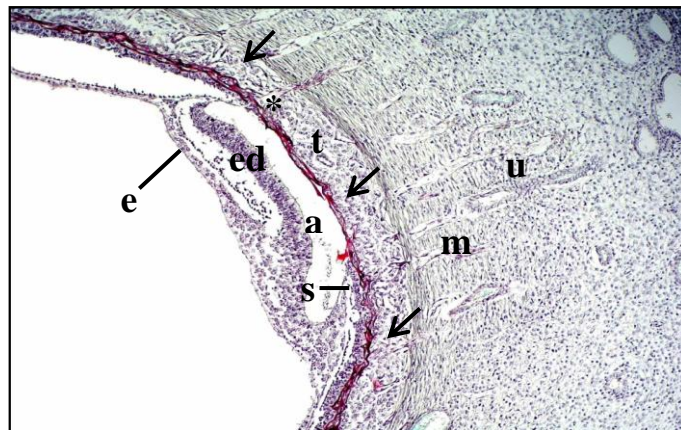
Materyal ve Metod

Çalışma için gerekli olan materyali sağlamak üzere Koyunbaba Mağarası'nda (Kırklareli) toplanan dişi örnekler canlı olarak laboratuvara getirilmiş ve eter anestezi ile bayıltılmıştır. Karın bölgelerinden açılarak uterus dokuları alınmış ve Saint-Marie fiksatifi (99ml %95'lik etanol+1ml glacial acetic acid) içinde saklanmıştır. Tespiti yapılan uterus dokuları derecelendirilmiş alkol serilerinden (%95, %100) geçirilerek dehidre edildikten sonra, kesitler ksilol ile şeffaflaştırılmıştır. Sıvı parafinde 58 0C' de 1 gece bekletilen doku örnekleri, kalıplara dökülerek doku blokları elde edilmiştir. Rotary mikrotom ile parafin bloklardan alınan 7 µ'luk seri kesitler distile su yardımı ile lamlar üzerine yayılarak genel histolojik yapının belirlenmesi için Hematoksilin-Eosin (Mayer's), Gomori trichrome ile boyanmıştır (Bancroft ve Cook, 1994). Boyanan kesitler entellan (Pancreac histofluid) ile kapatılarak daimi preparat haline getirildikten sonra mikroskopta (Olympus BX51) incelenerek değişik büyütme oranlarında fotoğrafları çekilmiştir.

Sonuçlar

Myotis myotis'de bicornis uterus görülür. Medial olarak ayrılmış uterus boynuzları Y şeklindedir ve boynuzlar distal olarak birleşirler. Uterus gövdesi tek bir serviks ile vajinaya açılır. Dişi bireylerin diseksiyonu sırasında sağ uterus boynuzunda belirgin bir şişkinliğin görülmesi ile uterus içinde embriyo olduğu belirlenmiştir. İncelenen bütün örneklerde implantasyonun sağ uterus boynuzunda gerçekleşerek, embriyo ve plasentanın bicornuate uterusun sağ boynuzunda yer aldığı tespit edilmiştir. İncelenen bütün *M. myotis* türü dişi bireylerinin sadece bir embriyo taşıdıkları tespit edilmiştir.

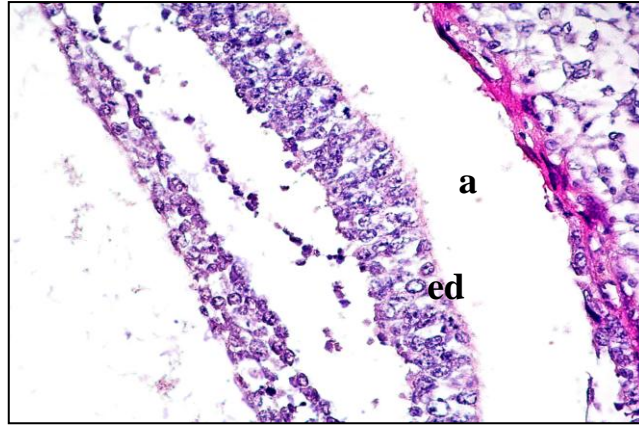
Histolojik olarak kesit alınan uterus dokuları incelendiğinde, embriyonun uterusu bağlandığı tarafta çok sayıda küçük hücreden meydana gelmiş olan embriyonal diskin oluştuğu tespit edilmiştir. İki tabakalı embriyo evresinde blastosistin endometriyum stroması içine kısmen gömülmüş olduğu gözlenmiştir (Şekil 1, 2). Embriyonik disk amnion boşluğunun taban kısmında yer alır (Şekil 1-3). Trofoblast aktif olarak çoğalan sitotrofoblast ve sinsisyotrofoblast tabakalarına farklılaşmıştır. Sinsisyotrofoblast hücreleri endometriyum bağ dokusu içine doğru yayılmıştır. Bu hücrelerin hücre sınırları belli değildir. Sinsisyotrofoblast hücreleri arasında trofoblastik lakünaların oluştuğu görülür. Trofoblastik lakünaların yakınında maternal arterler belirgindir. Tübüler uterus bezleri uzamış ve genişlemiştir. (Şekil 1, 4, 5).



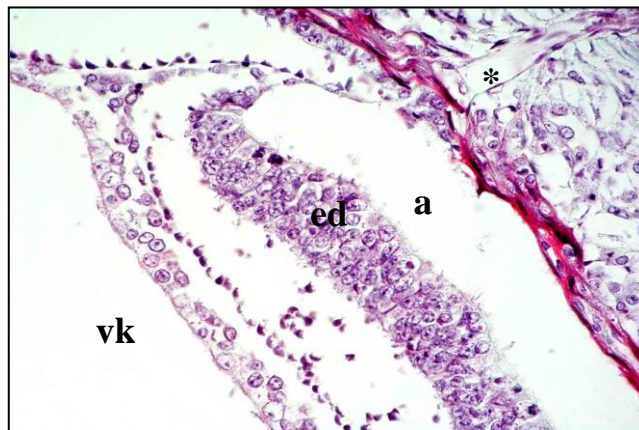
Şekil 1. İmplant olmuş bilaminar blastosist ve plasenta. X100. Embriyonik disk (ed), endoderm (e), uterus bezleri (u), amnion boşluğu (a), sitotrofoblast (s), trofoblastik laküna (t), maternal plasenta (m), sinsisyotrofoblast (→), maternal arterial kanal (*). Gomori trikrom.



Şekil 2. Endometriyuma penetre olan sinsiyo trofoblastlar ve implante olmuş bilaminar blastosist. X200. Embriyonik disk (ed), amnion boşuğu (a), sinsiyo trofoblast (→). Hematoksilen-Eosin.



Şekil 3. Bilaminar blastosist. X400. Embriyonik disk (ed), amnion boşuğu (a). Hematoksilen-Eosin.



Şekil 4. Bilaminar blastosist. X400. Embriyonik disk (ed), amnion boşuğu (a), maternal arterial kanal (*), vitellus kesesi (vk). Gomori trikrom



Şekil 5. Maternal plasenta. X400. Maternal arterial kanal (*), myometriyum (my). Gomori trikrom.

Tartışma

Yarasalarda uterus morfolojisi diğer memeli ordolarında olduğundan daha büyük bir varyasyon gösterir (Luckett, 1980). Vajinaya bağımsız servikal kanallar olarak açılan tamamen ayrı uterus lümenlerine sahip dupleks uterus, bazı yarasa türlerinde görülürken, çoğu türde ise medial olarak ayrılmış uterus boynuzlarının distal olarak birleştiği bicornuate uterus bulunmaktadır. Bazı yarasa türlerinde ise tek bir uterus gövdesinin bulunduğu simplex uterus görülür. İncelenen *M. myotis* türünde uterusun bicornuate olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmada *M. myotis*' de embriyo implantasyonunun sağ uterus boynuzunda gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bicornuate uterusu sahip bazı yarasalarda implantasyon her iki boynuzda olabilir, fakat implantasyonun tek tarafta olduğu pek çok tür mevcuttur. Bu çoğunlukla sağ boynuz, bazen de sol boynuzdur (Wimsatt, 1979; Badwaik ve Rasweiler, 2000).

Pekçok Vespertilionidae grubu yarasa normalde sadece bir yavru taşıırken, diğer pek çoğu iki ya da daha fazla yavru taşıyabilir (Kurta ve Kunz, 1987). Birden fazla yavru taşınması durumu aynı türün farklı populasyonlarında coğrafik olarak değişiklik gösterebilir (Kunz, 1974). Genel olarak Vespertilionidae familyası üyeleri iki ya da daha fazla yavru taşıdığında, her iki boynuz da implantasyon için kullanılır. (Sherman, 1930; Deanesly ve Warwick, 1939; Wimsatt, 1945, 1979; Kunz, 1974; Krutzsch, 1975). Bu çalışmada incelenen tüm hamile dişi bireylerin sadece bir yavru taşıdığı tespit edilmiştir.

Yarasalarda döllenme genellikle oviduktun (yumurta kanalı) infundibulumunda meydana gelir. Döllenmeden sonra yumurta bölünür ve holoblastik ve eşit yarıklanma gerçekleşir. Yarıklanma gerçekleşirken, döllenmiş olan yumurta ovidukt boyunca ilerler. *Myotis lucifugus*' da bu süre 4-5 gün olarak bildirilmiştir (Rasweiler, 1979). Embriyonun implantasyon öncesi gelişiminde yarasalar arasında oldukça farklılık mevcuttur. (Karim, 1976; Rasweiler, 1979; Gopalakrishna ve Karim, 1980). Rhinolophidae, Vespertilionidae, ve Molossidae familyalarında embriyo uterusu yarıklanmanın başında ya da morula evresinde geçer (Rasweiler, 1993). Yarasalarda embriyo implantasyonu üzerine yapılan çalışmalar oldukça fazla tür varyasyonlarının olduğunu göstermiştir (Wimsatt, 1975; Rasweiler, 1979; Karim, 1986; Mossman, 1987; Heideman ve Ark., 1993; Heideman ve Powell, 1998; Carter ve Ark., 2008). Marsupieller haricindeki çoğu memelide olduğu gibi, yarasalarda da genellikle unilaminar blastosistdeki primitif endoderm (hypoblast), iç hücre kümesinin ventral yüzeyinden hücrelerin delaminasyon ve migrasyonu ile oluşur. Endoderm vitellus kesesini oluşturarak periferal olarak blastosist boşluğunun interiorüne genişler. Böylelikle unilaminar blastosist bilaminar hale gelir. İncelenen örneklerde iki tabakalı embriyo evresinde blastosistin endometrium stroması içine kısmen gömülmüş halde olduğu tespit edilmiştir. Amnion boşluğunun taban kısmında embriyonik disk yer alır ve trofoblast sitotrofoblast ve sinsiyotrofoblast tabakalarına farklılaşmıştır.

Yapılan bu çalışmada *Myotis myotis* türü yarasalarda embriyo implantasyonu histolojik bakımdan incelenmiştir. Gelişimin daha ileri evrelerinde plasentanın ve fetal zarların incelenmesine yönelik çalışmalar, bu grupta gelişimin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. ALTRINGHAM JD. Bats: Biology and behavior. Oxford University Press, p. 264, Oxford, 1996.
2. AMOROSO EC. Placentation. Pp: 127–311, In: Parkes AS, editor. Marshall's physiology of reproduction. London: Longmans, Green, 1952.
3. BADWAIK NK, RASWEILER JJIV. Pregnancy. Pp: 221–293. In: Crichton EG, Krutzsch PH, editors. Reproductive biology of bats. Academic Press. SanDiego, 2000.
4. BANCROFT JD, COOK HC. Manual of Histological Techniques and Their Diagnostic Application. Churchill Livingstone, p. 457, London, 1994.
5. CARTER AM, GOODMAN SM, ENDERS AC. Female reproductive tract and placentation in sucker-footed bats (Chiroptera: Myzopodidae) endemic to Madagascar. *Placenta*. 29(6); 484-91, 2008.
6. DEANESLY R, WARWICK T. Observations on pregnancy in the common bat (*Pipistrellus pipistrellus*). *Proceedings of the Zoological Society of London. Series A* 109; 57–60, 1939.
7. ELANGO VAN V, RAGHURAM H, YUVANA SATYA PRIYA E, MARIMUTHU G. Wing morphology and flight development in the short-nosed fruit bat *Cynopterus sphinx*. *Zoology*. 110; 189–196, 2007.
8. ENDERS AC. A comparative study of the fine structure of the trophoblast in several hemochorial placentas. *American Journal of Anatomy*. 116; 29–68, 1965.
9. GOPALAKRISHNA A, KARIM KB. Female genital anatomy and the morphogenesis of foetal membranes of Chiroptera and their bearing on the phylogenetic relationships of the group. Pp: 379-428. In: National Academy of Sciences, India: Golden Jubilee Commemoration Volume. U.S. Srivastava, ed. Naya Prokash, Allahabad, India, 1980.
10. HEIDEMAN PD, CUMMINGS JA, HEANEY LR. Reproductive timing and early embryonic development in the Old World fruit bat, *Otopteropus cartilagonodus* (Megachiroptera). *Journal of Mammalogy*. 74; 621–30, 1993.
11. HEIDEMAN PD, POWELL KS. Age-specific reproductive strategies and delayed embryonic development in an old world fruit bat, *Ptenochirus jargori*. *Journal of Mammalogy*. 79; 295–311, 1998.
12. KARIM KB. Blastocyst–uterus relationship in the Indian rhinopomatid, *Rhinopoma hardwickei hardwickei*. Pp: 427–34. In *Progress in Developmental Biology*, Part A, ed.H. C. Slavkin, New York, Alan Liss., 1986.
13. KARIM KB. Embryology of some Indian Chiroptera. DSc dissertation, Nagpur University, India, 1976.
14. KOOPMAN_KF. Bats. In: D.E. Wilson and D.M. Reeder, Editors, *Mammalian Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference*, Smithsonian Institution Press, Washington, 1993.
15. KRUTZSCH PH. Reproduction of the canyon bat, *Pipistrellus hesperus*, in southwestern United States. *The American Journal of Anatomy*. 143; 163–200, 1975.
16. KUNZ TH. Reproduction, growth, and mortality of the vespertilionid bat, *Eptesicus fuscus*, in Kansas. *Journal of Mammalogy*. 55; 1–13, 1974.
17. KURTA A, KUNZ TH. Size of bats at birth and maternal investment during pregnancy. *Symposia of the Zoological Society of London*. 57; 79–106, 1987.
18. LUCKETT WP. The use of fetal membrane data in assessing chiropteran phylogeny. Pp: 245–265. In: Wilson DE, Gardner AL, editors. *Proceedings Fifth International Bat Research Conference*. Lubbock: Texas Tech Press, 1980.

19. MOSSMAN HW. Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures. *Contributions to Embryology, Carnegie Institute*. 26; 129–246, 1937.
20. MOSSMAN HW. Vertebrate Fetal Membranes: Comparative Ontogeny and Morphology; Evolution; Phylogenetic Significance; Basic Functions; Research Opportunities. New Brunswick: Rutgers University Press, 1987.
21. NEUWEILER G. The biology of bats. Oxford University Press, p. 310, New York, 2000.
22. RACEY PA. The prolonged storage and survival of spermatozoa in Chiroptera. *Journal of Reproduction and Fertility*. 56; 391–402, 1979.
23. RASWEILER JJIV. Early embryonic development and implantation in bats. *Journal of Reproduction and Fertility*. 56; 403–16, 1979.
24. RASWEILER JJIV. Pregnancy in Chiroptera. *Journal of Experimental Zoology*. 266; 495–513, 1993.
25. REEP RL, BHATNAGAR KP. Brain ontogeny and ecomorphology in bats. Pp: 93–136. In: Adams RA, Pedersen SC, editors. Ontogeny, functional ecology, and evolution of bats. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
26. SHERMAN HB. Birth of the young of *Myotis austroriparius*. *Journal of Mammalogy*. 11; 495–503, 1930.
27. STARCK D. Ontogenie und Entwicklungsphysiologie der Säugetiere. Pp: 1–276. In: Kuñenthal W, editor. *Handbuch der Zoologie*, Vol. 8, part 22, 9(7). Berlin: Walter Gruyter, 1959.
28. WIMSATT WA. Notes on breeding behaviour, pregnancy and parturition in some vespertilionid bats of the eastern United States. *Journal of Mammalogy*. 26; 23–33, 1945.
29. WIMSATT WA. Reproductive asymmetry and unilateral pregnancy in Chiroptera. *Journal of Reproduction and Fertility*. 56; 345–357, 1979.
30. WIMSATT WA. Some comparative aspects of implantation. *Biology of Reproduction*. 12; 1-40, 1975.