



Muhabbet Kuşu (*Melopsittacus undulatus*) ve Hint Bülbülü (*Taeniopygia guttata*) Yumurta Kabuğunun Elemental ve Ultrastrüktürel Yapısının Taramalı Elektron Mikroskop ile Karşılaştırılması*

Buket BAKIR^{1✉}, Ebru KARADAĞ SARI², Seyit Ali BİNGÖL³

1. Namık Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, TÜRKİYE.
2. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.
3. Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Kars, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
01.12.2015	26.04.2016	31.10.2016

Öz: Bu çalışmada, muhabbet kuşu (*Melopsittacus undulatus*) yumurta kabukları ile hint bülbülü (*Taeniopygia guttata*) yumurta kabuklarının element düzeyleri ve yapısal özellikleri taramalı elektron mikroskop kullanılarak incelenmesi amaçlandı. Çalışmada 10 adet muhabbet kuşu ve hint bülbülü yumurtaları kullanıldı. Yumurta kabukları bir gece distile suda bekletildikten sonra kalan zarlar uzaklaştırıldı ve oda ısısında 24 saat kurumaya bırakıldı. Herbir yumurta kabuğunun ekvator ve kutup bölgelerinden yaklaşık 0.5 cm² ebatlarında örnekler alındı. Yumurta kabuğu örnekleri iç, dış ve dikey olacak şekilde stublara yapılandırıldı. Örnekler taramalı elektron mikroskopunda element oranı ve yapı bakımından incelendi. Yumurta kabuklarının dış tabakalarında kalsiyum (Ca), oksijen (O₂), karbon (C) iç tabakalarında ise Ca, O₂, C, azot (N) ve kükürt (S) elementlerinin yer aldığı tespit edildi. Muhabbet kuşunda mamillary ve palisade tabakalarının hint bülbülü mamillary ve palisade tabakalarına göre daha kalın olduğu görüldü. Sonuçta, muhabbet kuşu ve hint bülbülü yumurta kabuklarının benzer özellikler gösterdiği saptandı.

Anahtar Kelimeler: Hint bülbülü, Muhabbet kuşu, Taramalı elektron mikroskobu, Yumurta kabuğu.

Comparison of Elemental and Ultrastructure of Eggshells of Budgerigar (*Melopsittacus undulatus*) and Zebra Finch (*Taeniopygia guttata*) with Scanning Electron Microscope

Abstract: The purpose of this study was to investigate elemental and ultrastructural analysis of eggshells of Budgerigar (*Melopsittacus undulatus*) and Zebra finch (*Taeniopygia guttata*) using scanning electron microscope. Ten Budgerigar's eggshells and Zebra finch's eggshells were used in this study. The remaining of eggshell membranes were removed after the eggshells were incubated with distilled water overnight and were allowed to dry at room temperature over 24 h. About 0.5 cm² section was cut from part of equatorial and pole of each eggshell. The Shell was fixed inner, outer and vertical posture to stubs. The samples were examined ratio of element and ultrastructure under scanning electronmicroscope. It was observed calcium (Ca), oxygen (O₂), carbon (C) in outer layer and Ca, O₂, C, nitrogen (N) and sulfur (S) in inner layer of eggshell membrane. It was determined mamillary and palisade layer of budgerigar's eggshell were thicker than mamillary and palisade layer of zebra finch's eggshell. In conclusion, it was determined eggshells of budgerigar and eggshells of Zebra finch are similar properties.

Keywords: Budgerigar, Eggshell, Scanning electron microscopy, Zebra finch.

✉ Buket BAKIR

Namık Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, TÜRKİYE.
e-posta: buhal@hotmail.com

* Bu makale, İstanbul Sabancı Üniversitesi tarafından düzenlenen 22. Elektron mikroskopi kongresinde sunulmuştur; S: 84, 2-4 Eylül, 2015.

GİRİŞ

Kanatlı türlerinde çok önemli olan yumurta; değişen dış ortama karşı yumurta içeriğini korumak, emriyo gelişimi süresince porlar aracılığıyla gaz ve su değişimini kontrol etmek, embriyonik gelişim için kalsiyum (Ca) sağlamak gibi başlıca görevlere sahiptir (1). Kanatlı yumurtasının temel duvar yapısının %95'ini Ca oluşturur. %5'i ise organik materyallerden oluşmuştur (2).

Yumurta kabuğu temel olarak altı tabakadan oluşmaktadır (3). En içte kalsifiye olmamış iki tabaka yer alır. Bu tabakaların her biri albumini çevreleyen fibril ağlardan yapılmıştır. Dışa doğru sıralandığında düzenli bir şekli olmayan ve kalsifikasyonun şekillendiği tabaka mamillary tabakasıdır. Organik materyaller ve özellikle fibrillerden zengin tabaka palisade tabakasıdır (4). Palisade tabakası vertikal kristal tabaka olarak adlandırılan ve taramalı elektron mikroskobu (SEM)'nda çok net ayırt edilemeyen tabakayla sonlanır. Bu tabakadaki kristalitler kabuk yüzeyine dik olarak hizalanmıştır (5). Dış tabaka, kütikula tabaka, organik materyallerin depolandığı, pigmentasyonun şekillendiği, gaz değişiminin sağlandığı ve su kaybının önlenildiği tabakadır (4,6,7).

Papağan ailesinin bir üyesi olan muhabbet kuşu (*Melopsittacus undulatus*) Avrupa ve kuzey Amerika çevresinde yaşayan bir türdür. Dış görünüşlerinden dolayı dünya genelinde yoğun olarak evcil hayvan olarak beslenmektedirler (8). Besin buldukları sürece her zaman çifleşebilen muhabbet kuşları, 18-21 gün süren kuluçka süreleri sonunda 4-6 yavru dünyaya getirebilirler (9).

Hint bülbülü (*Taeniopygia guttata*) Zebra ispinozu olarak da bilinir. Anavatanları Avustralya olan hint bülbülü muhabbet kuşuna benzer şekilde evcilleştirilerek tüm dünyaya yayılan bir kuş türüdür (10). Üreme güdülerini yüksek olan Hint bülbülü uygun besin koşullarında her zaman çiftleşebilir ve yaklaşık 14 gün süren kuluçka döneminden sonra 4-5 yavru dünyaya getirebilir (11).

Bu çalışma ile benzer habitatta yaşayan, üreme güdülerini, yumurta sayıları ve yumurtadan çıkan yavru sayıları benzer olan (8-11) muhabbet kuşu (*Melopsittacus undulatus*) ve hint bülbülü (*Taeniopygia guttata*) yumurta kabuklarının elemental ve ultrastrüktürel yapısı scanning elektron mikroskop (SEM) ile incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada 10 adet muhabbet kuşu (*Melopsittacus undulatus*) ve hint bülbülü (*Taeniopygia guttata*) yumurta kabukları kullanıldı.

Yumurta kabukları bir gece distile suda bekletildikten sonra kalan zarlar uzaklaştırıldı ve kabuklar oda ısısında 24 saat kurumaya bırakıldı. Sıyrılamayan zar kalıntılarının uzaklaştırılması için her bir kabuk 30 dakika boyunca %5 sodyum hidroksitte bekletildi. Hazırlanan örneklerin membran yapılarının taramalı elektron mikroskobunda daha iyi ayırtedilebilmesi için bir gece boyunca %6 sodyum hipoklorit, %4.12 sodyum klorit, %0.15 sodyum hidroksid içinde tutuldu. Daha sonra kabuklar distile suya batırılıp çıkarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında kurumaya bırakıldı (12). Her bir yumurta kabuğunun ekvator ve kutup kısımlarından yaklaşık 0.5 cm² ebatlarında örnekler alındı. Stublara yapıştırılmış bantların üzerine, hazırlanan yumurta kabuğu örnekleri iç, dış ve dikey olacak şekilde yapıştırıldı. Örnekler taramalı elektron mikroskobunda (FEİ, QUANTA FEG 250) element oranı ve yapı bakımından incelendi. Gruplar arasında elementlerin yüzdelik oranı ortalama alınarak karşılaştırıldı.

BULGULAR

Muhabbet kuşu ve hint bülbülü yumurta kabuklarının kutup ve ekvatoryal bölgelerinin dış kısmında yapılan element analizinde yüzdelik oranına göre büyükten küçüğe sırasıyla muhabbet kuşunda karbon (C), oksijen (O₂) ve kalsiyum (Ca) şeklinde bir sıralama yer alırken hint bülbülünde O₂,

C ve Ca şeklinde olduğu tespit edildi. Kutup ve ekvatoryal bölgenin iç kısmında ise her iki grupta sırasıyla C, O₂, azot (N), Ca ve kükürt (S) şeklinde olduğu görüldü (Tablo 1). Her iki gruptaki porların sayıca ekvatoryal bölgenin dış kısmında kutup bölgenin dış kısmında yer alan por sayısına oranla daha fazla olduğu tespit edildi. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında hem ekvatoryal hem de kutup bölgelerinin dış kısmında bulunan porların muhabbet kuşu yumurta kabuğunda daha fazla olduğu tespit edildi (Şekil 1, 3). Ekvatoryal ve kutup bölgelerinin hem iç hem de dış bölgelerinde yapılan incelemeler sonucunda kabuğun dış kısmında porların yer aldığı iç kısmında ise hernekadar iç zarın çok dikkatli bir şekilde ayrılmasına özen gösterilse de porların görülmediği sadece iç zarın ipliksi yapısının yer aldığı görüldü (Şekil 2, 4). Her iki tür mammillary ve palisade tabaka kalınlıkları bakımından karşılaştırıldığında ise muhabbet kuşlarının kutup bölgesinde mammillary tabaka kalınlığı ortalama 66.10 palisade tabaka kalınlığı ise ortalama 61.05, ekvatoryal bölgede mammillary tabaka ortalama 75.24, palisade tabakası ortalama 73.12 olarak

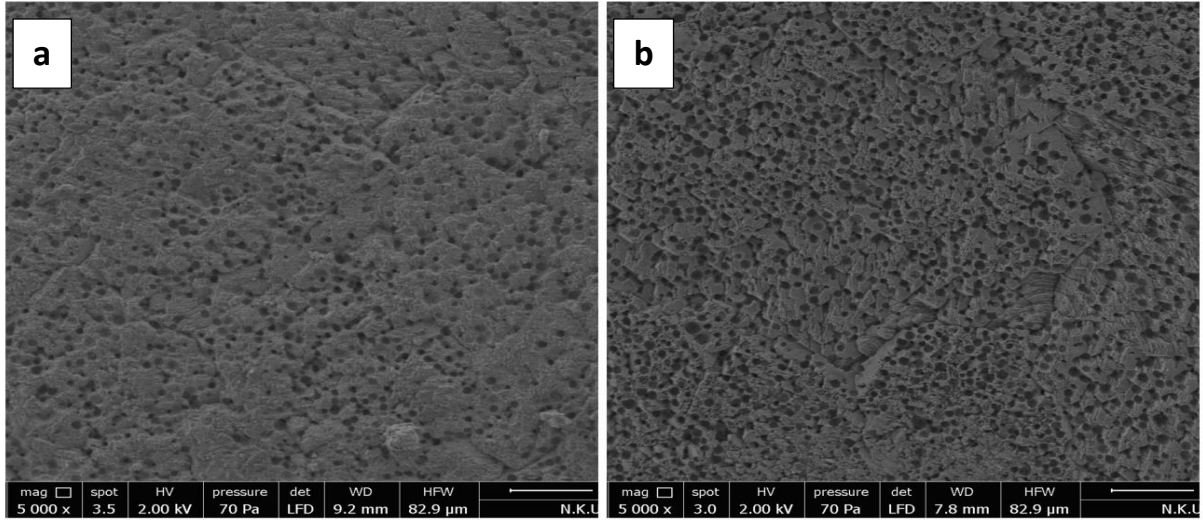
ölçüldü. Hint bülbülünde ise kutup bölgesinde mammillary tabaka kalınlığı ortalama 37.37 palisade tabakası ortalama 24.17, ekvatoryal bölgede mammillary tabaka kalınlığı ortalama 48.18 palisade tabaka kalınlığı ortalama 21.16 olarak ölçüldü (Tablo 2, Şekil 5).

Tablo 1. Muhabbet kuşu (*Melopsittacus undulatus*) ve hint bülbülü (*Taeniopygia guttata*) yumurta kabuklarının ekvatoryal ve kutup bölgelerinin element oranlarının karşılaştırılması.

Table 1. comparison of ratio of elemental of the equatorial and pole regions of Budgerigar's (*Melopsittacus undulatus*) and Zebra finch's (*Taeniopygia guttata*) eggshells.

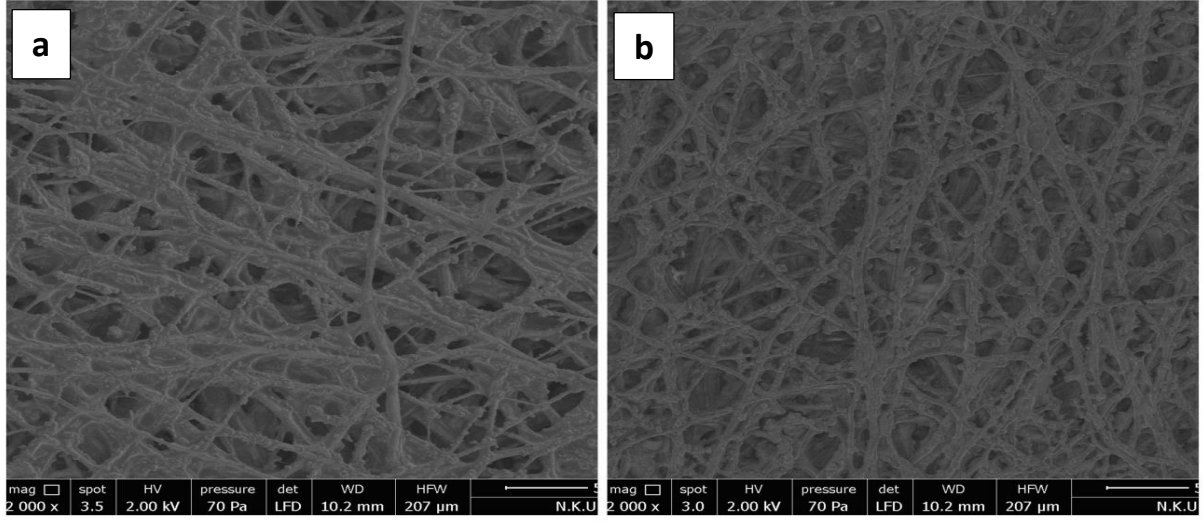
Gruplar	Ekvatoryal ve kutup dış bölge	Ekvatoryal ve kutup iç bölge
Muhabbet Kuşu	C, O ₂ , Ca	C, O ₂ , N, Ca, S
Hint Bülbülü	O ₂ , C, Ca	C, O ₂ , N, Ca, S

Karbon (C), oksijen (O₂), kalsiyum (Ca), azot (N), kükürt (S)



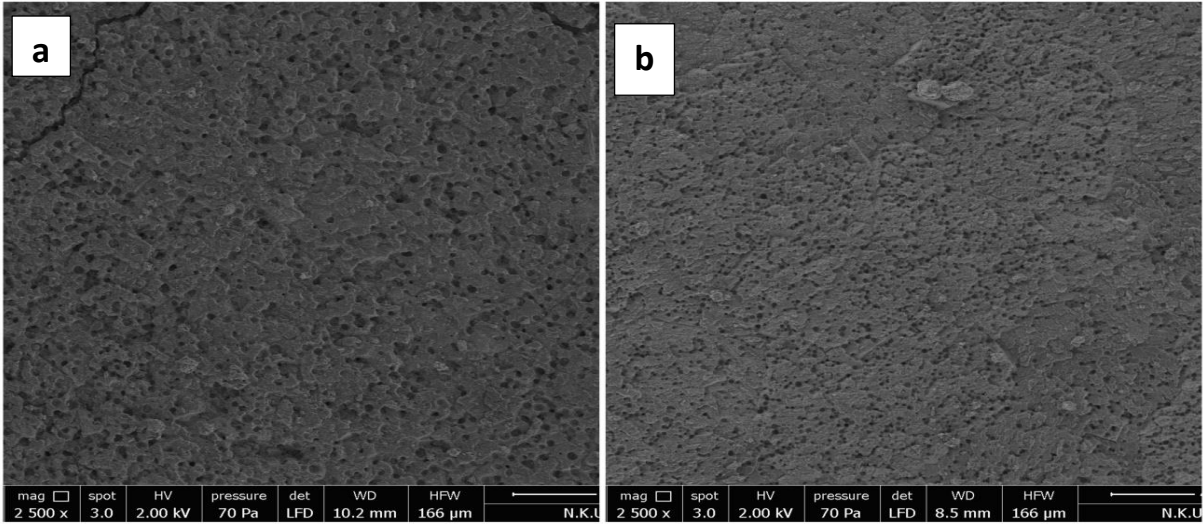
Şekil 1. Yumurta kabuklarının ekvatoryal bölgelerinin dış görünümü, porlar. a: Muhabbet Kuşu b: Hint Bülbülü, SEM, Bar: 20 µm.

Figure 1. The external appearance of the equatorial regions of the eggshells, pores a: Budgerigar b: Zebra finch, SEM, Bar: 20 µm.



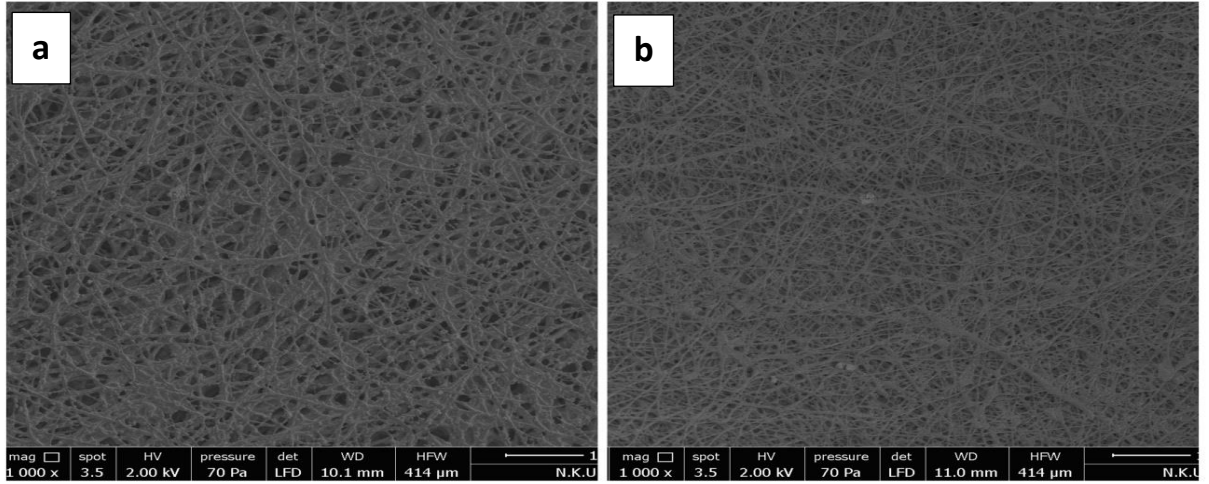
Şekil 2. Yumurta kabuklarının ekvatoryal bölgelerinin iç görünümü. a: Muhabbet Kuşu, b: Hint Bülbülü, SEM, Bar: 50 µm.

Figure 2. The internal appearance of the equatorial regions of the eggshells. a: Budgerigar, b: Zebra Finch, SEM, Bar: 50 µm.



Şekil 3. Yumurta kabuklarının kutup bölgelerinin dış görünümü, porlar. a: Muhabbet Kuşu, b: Hint Bülbülü, SEM, Bar: 40 µm.

Figure 3. The external appearance of the pole regions of the eggshells, pores. a: Budgerigar, b: Zebra finch, SEM, Bar: 40 µm.



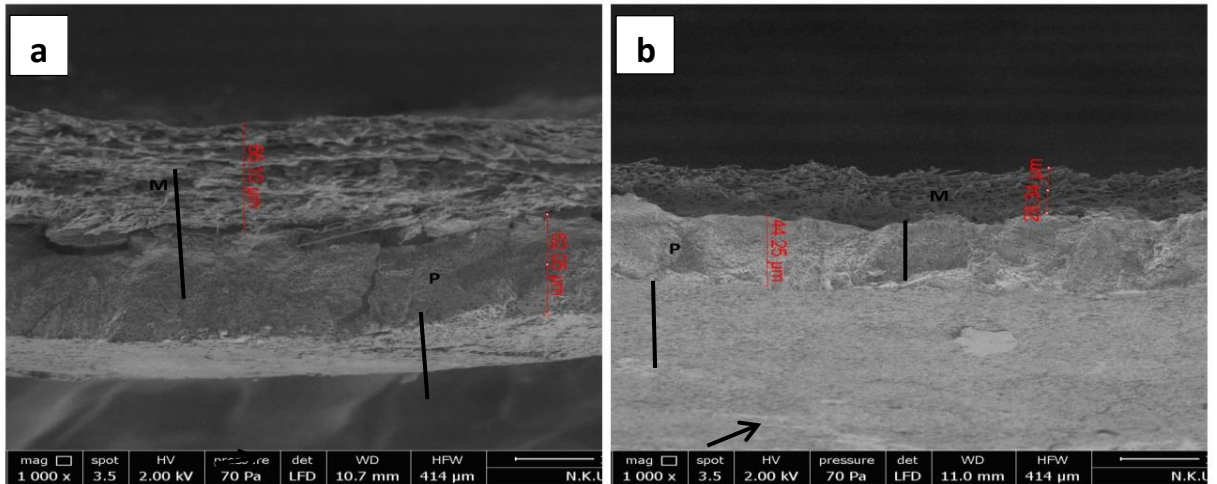
Şekil 4. Yumurta kabuklarının kutup bölgelerinin iç görünümü. a: Muhabbet Kuşu, b: Hint Bülbülü, SEM, Bar: 100 µm.

Figure 4. The internal appearance of the pole regions of the eggshells. a: Budgerigar, b: Zebra finch, SEM, Bar: 100 µm.

Tablo 2. Muhabbet kuşu ve Hint bülbülü yumurta kabuklarının mamillary ve palisade tabaka kalınlıklarının karşılaştırılması.

Table 2. comparison of thickness of mamillary and palisade layer of Budgerigar's (*Melopsittacus undulatus*) and Zebra finch's (*Taeniopygia guttata*) eggshells.

Gruplar	Kutup bölgesi mamillary tabakası	Kutup bölgesi palisade tabakası	Ekvatoryal bölge mamillary tabakası	Kutup bölgesi palisade tabakası
Muhabbet kuşu	66.10	61.05	75.24	73.12
Hint bülbülü	37.37	24.17	48.18	21.16



Şekil 5. Yumurta kabuklarının dik kesit görünümü. M: mamillary tabakası P: palisade tabakası, ok: kütikula tabakası, a: Muhabbet Kuşu, b: Hint Bülbülü, SEM, Bar: 100 µm.

Figure 5. Vertical sectional view of the eggshells. M: mamillary layer P: palisade layer, arrow: cuticle layer, a: Budgerigar, b: Zebra finch, SEM, Bar: 100 µm.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Yumurta kabuğunun yapısında başlıca Ca, magnezyum (Mg), sodyum (Na), C gibi temel elementlerin bulunduğu bildirilmiştir (13). Bu elementlerden yaklaşık %95'inin kalsit olarak bilinen kalsiyum karbonat (CaCO₃)'tan oluştuğu belirtilmiştir (7). Muhabbet kuşu ve hint bülbülü yumurtalarında yaptığımız incelemeler sonucunda her iki türde de benzer olarak dış kabuk zarında C, O₂ ve Ca, iç kabuk zarında ise C, O₂, N, Ca ve S elementlerinin var olduğu tespit edildi. Yumurta kabuğu zarında S ile ilgili herhangi bir literatür bilgisine rastlanılamamıştır. Ancak yapılan çalışmada muhabbet kuşu ve hint bülbülü yumurta kabuklarının hem ekvatoryal hem de kutup bölgelerinin iç kısmında S tespit edilmiştir. Bunun muhtemel sebepleri arasında türler arasındaki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülebilir.

Yumurta kabuğunda bulunan porlar embriyonun solunum organı olarak görev yapar. O₂, karbondioksit (CO₂) ve su (H₂O) alışverişini sağlar (14). Yaptığımız çalışmada gözlemsel olarak porların özellikle kabuğun dış kısmında olduğu sayıca muhabbet kuşunda daha fazla olduğu tespit edildi.

Orban ve Roland (15), yumurta kabuğu kalınlığı, ağırlığı ve sertliğinin yumurta kalitesini belirlediğini belirtmişlerdir. Birçok araştırmacı (16-18), mamillary tabakasının kalınlığı ile yumurta kabuğu sertliği ve daha dayanıklılığı arasında ilişki olduğunu belirtmiştir. Mamillary tabakası embriyo gelişimi boyunca en önemli Ca kaynağıdır. Bu süre içerisinde yaklaşık Ca'nın %80'i bu tabakadan karşılanır (19). Yapılan çalışmada muhabbet kuşu yumurta kalınlığının (hem mamillary hem de palisade tabakaları) hint bülbülü yumurta kalınlığından daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Yumurta kabuğunda ekvatoryal bölgenin daha geniş, daha kalın ve sert olması bakımından çalışmalar daha çok bu bölgede gerçekleştirilmiştir (20). Yaptığımız çalışmada bu bölgenin yanısıra her iki tür arasında yumurta kabuğunda yapılan karşılaştırmanın daha ayrıntılı ve anlaşılır olması için aynı zamanda kutup bölgesini de içermektedir.

SEM'de mamillary, palisade ve kütikula tabakaları ayırt edilebildiği belirtilmiştir (3,21). Yaptığımız çalışmada bahsedilen literatür kaynaklarında belirtildiği gibi mamillary, palisade ve kütikula tabakalarının ayırt edildiği tespit edildi.

Sonuç olarak, muhabbet kuşu ve hint bülbülü yumurta kabuklarında yapılan çalışmalarda yumurta kabuğu kalınlığı, por sayısı ve içerdiği elementlerin miktarı ve çeşidinin yumurta kalitesini belirleyen bulgular olduğu belirtilmiştir. Bu sonuçlar ışığında benzer habitatta benzer üreme döngüsüne sahip iki farklı kuş türü olan muhabbet kuşu ve hint bülbülü yumurta kabuklarının kutup ve ekvatoryal bölgelerinde elemental ve ultrastrüktürel yapılan incelemeler sonucunda farklılıklarının yanında birçok özelliklerinin de benzer olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma farklı kuş türlerini karşılaştırmak amacıyla yapılacak yeni çalışmalarda karşılaştırmayı kolaylaştırmak veya kuluçka süresini azaltmak, yumurta verimliliğini arttırmak amacıyla yapılacak başka çalışmalara destek olabilir.

KAYNAKLAR

1. Panheleux M., Bain M., Fernandez MS., Morales I., Gautron J., Arias JL., 1999. Organic matrix composition and ultrastructure of eggshell: a comparative study. *British Poultry Science*, 40, 240-252.
2. Miller GM., 1975. The deposition of calcium carbonate. B.Sc. Thesis, Department of Chemistry. University of Glasgow UK.
3. Solomon SE., 1991. Egg and eggshell quality. 149, Wolfe Publishing Limited, London.
4. Dennis JE., Xiao SQ., Agarwal M., Fink DJ., Heuer AH., Caplan AI., 1996. Microstructure of matrix and mineral components of eggshells from white leghorn chicken (*Gallus gallus*). *Journal of Morphology*, 228, 287-306.
5. Bain MM., 1990. Eggshell strength: A mechanical/ultrastructural evaluation. PhD. Thesis, University of Glasgow, UK.
6. Former D., 1963. Permeability of the hens' eggshell. *Poultry Science*, 42, 1271.

7. Nys Y., Zawadzki J., Gautron J., Mills AD., 1991. Whitening of brown-shelled eggs: Mineral composition of uterine fluid and rate of protoporphyrin deposition. *Poultry Science*, 70, 1236-1245.
8. Wyndham E., 1980. Environment and food of the budgerigar. *Australian Journal of Ecology*, 5, 47-61.
9. Wyndham E., 1980. Diurnal cycle, behaviour and social organization of the budgerigar. *Melopsittacus undulatus*. *Emu-Austral Ornithology*, 80, 25-33.
10. Slater PJB., Eales LA., Clayton NS., 1988. Song learning in Zebra Finches (*Taeniopygia guttata*) progress and prospects. *Advances in the Study of Behaviour*, 18, 1-34.
11. Richard AZ., 1996. The Zebra Finch a synthesis of field and laboratory studies. Oxford University Press, p. 335. ISBN 0-19-854079-5.
12. Osama KAE., 2008. Use of scanning electron microscopy techniques for predicting variations in eggshells quality of chickens. Master thesis, Department of Poultry Production Faculty of Agriculture, Ain Sham University, Cairo
13. Powrie WD., 1972. Chemistry of eggs and eggs products. In "Egg science and technology", Eds., WJ Stadelman, OJ Cotterill, 65-91, the AVI publishing company, INC. Westport, Connecticut.
14. Baxter-Jones C., 1994. Egg hygiene: Microbial contamination, significance and control In "Avian incubation" Ed., SG Tullet, 269-276, Butterworth, Heinemann.
15. Orban JI., Roland DA., 1990. Correlation of eggshell quality with tibia status and other production parameters in commercial Leghorns at oviposition and 10 hour post oviposition. *Poultry Science*, 69, 2068-2073.
16. Robinson DS., King DR., 1970. The structure of the organic mammillary cores in some weak egg shells. *British Poultry Science*, 11, 39-44.
17. King NR., Robinson DS., 1972. The use of the scanning electron microscope for comparing the structure of weak and strong shells. *Journal of Microscopy*, 95, 437-443.
18. Simons PC., Wiertz M., Wiertz G., 1963. Notes on the structure of membranes and shell in the hen's egg. An electron microscopical study. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, 59, 555-567.
19. Simkiss K., 1961. Calcium metabolism and avian reproduction. *Biological reviews of the cambridge philosophical society*, 36, 321-367.
20. Hamilton RMV., 1982. Methods and factors that effect the measurement of eggshell quality. *Poultry science*, 61, 2022-2039.
21. Mikhailov KE., 1987. The principal structure of the avianegg-shell: data of SEM studies. *Acta Zoologica*, 30, 53-70.