

***Hyalomma marginatum* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae)'un Ovaryumunun Histolojik Yapısı**Elif YAMAN¹, Nadim YILMAZER^{2*}¹Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ²Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Tekirdağ*Sorumlu yazar e-posta: nyilmazer@nku.edu.tr
yaman_elif@ymail.comORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-9935-9608>
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-2345-6789>

Geliş Tarihi: 25.03.2020

Kabul Tarihi: 17.02.2021

Öz

Hyalomma marginatum'un ovaryumu ve ovogenez süreci ilk kez bu çalışmada ışık mikroskobu düzeyinde histolojik ve histokimyasal olarak incelenmiştir. Ovaryum nurse ve folikül hücrelerinden yoksundur ve bu nedenle panoistik olarak tanımlanmıştır. İçi boş tübül biçimindeki ovaryumun duvarı tek sıra epitel hücrelerinden ve gelişmekte olan ovositlerden oluşur. Ovositler bir pedisel ile hemosöle bakacak şekilde ovaryum duvarına bağlıdır. Sitoplazmanın görünüşü, germinal vesikülün varlığı, yumurta sarısı granüllerinin bileşimi ve koryonun oluşumuna göre gelişmekte olan ovositler sınıflandırılmış ve dört evre tanımlanmıştır. Olgun ovositler küresele yakın eliptik şekilli olup, en büyük ovosit 315x295 µm çapındadır. Protein ve karbonhidratların varlığını gösteren boyama teknikleri bu kene türünde, yumurta sarısı granüllerinde hem proteinlerin hem de karbonhidratların bulunduğunu, vitellogenizde karbonhidratların proteinlerden önce sentezlendiğini ve koryonda karbonhidratların baskın olduğunu göstermiştir. Çok yaygın olmasa da ovaryumda ovosit yozlaşması gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler

Hyalomma marginatum; Ovaryum;
Ovogenez; Histoloji;
Histokimya

Histological Structure of the Ovary of *Hyalomma marginatum* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae)**Abstract**

With this study, the ovary and oogenesis in *Hyalomma marginatum* were histologically and histochemically examined at light microscope level for the first time. The ovary lacks nurse and follicular cells, thus defined as panoistic type. Wall of the ovary, a hollow tubular structure, is composed of a layer of epithelial cells and developing oocytes. Facing hemocoel, oocytes are attached to the ovarian wall through a pedicel. The developing oocytes were classified according to cytoplasm appearance, presence of germinal vesicle, constitution of yolk granules, and formation of chorion, and accordingly four developmental stages were described. Mature oocytes were oval to rounded in shape, the largest one being 315x295 µm in diameter. Staining techniques revealing the presence of proteins and carbohydrates indicate in this tick species that yolk granules contain both proteins and carbohydrates, that carbohydrates are first to be synthesized prior to proteins during vitellogenesis, and that carbohydrates predominate in chorion. Oocyte degeneration was observed although it was not so common in the ovary.

Keywords

Hyalomma marginatum; Ovary;
Oogenesis; Histology;
Histochemistry

© Afyon Kocatepe Üniversitesi

1. Giriş

Keneler sivrisineklerden sonra dünya çapında insan hastalıkları açısından ikinci büyük vektör grubudur, evcil ve yaban hayvanlarında ise hastalık oluşturan patojenlerin bir numaralı vektörüdür; bu nedenle oldukça büyük ekonomik kayıplara neden olur

(Ghosh vd. 2007, Rymaszewska 2007). Günümüzde, dünyada kabul edilen 907 kene türünün yaklaşık %10'u, 200 kadar hastalığın bulaştırılması ile ilişkilidir (Jongejan ve Uilenberg 2004, Labuda ve Nuttall 2004). Normal koşullarda biyolojisini insan üzerinde tamamlama eğiliminde olan herhangi bir

kene türü olmasa da insanlardan kan emdiği belirlenen 222 kene türü vardır. Ancak bunlardan sadece 33 tanesi sıklıkla insanı bir konak olarak tercih eder. Bu 33 türden 28'inin de doğrudan hastalık etkenlerini bulaştırmada rol aldığı bilinmektedir (Estrada-Peña ve Jongejan 1999, Anderson ve Magnarelli 2008, Gargılı vd. 2010).

Türkiye iklimi, yüzey şekli ve bitki örtüsü bakımından, kenelerin biyolojik aktivitelerini sürdürmek için uygun koşullara sahip bir ülkedir, bu nedenle ülkemizde pek çok kene türüne rastlamamız mümkündür (Güler 1982, Güler vd. 1993). Türkiye'den bugüne kadar 41'i Ixodidae ve sekiz tanesi Argasidae ailesinden olmak üzere toplam 49 kene türü bildirilmiştir (Yilmazer 2018). *Hyalomma* cinsine dahil kene türlerinin hem insanlar ve hem de hayvanlarda hastalık oluşturan çeşitli parazit, bakteri ve virüsün vektörü olduğu bilinmektedir. Dünya çapında bilinen 30 *Hyalomma* türü vardır; bunlardan sekizi ülkemizde bulunur: *H. aegyptium*, *H. anatolicum*, *H. detritum*, *H. dromedarii*, *H. excavatum*, *H. marginatum*, *H. rufipes* (Bakırcı vd. 2011). Akdeniz *Hyalomma*'sı olarak da bilinen ve ülkemizde hemen her iklim bölgesinde bulunan *Hyalomma marginatum* Asya, Avrupa'nın doğusu ve Kuzey Afrika'da yayılım gösterir ve aralarında Türkiye de olmak üzere bu bölgelerdeki 30'dan fazla ülkede Kırım Kongo kanamalı ateşi epidemilerinden sorumludur (Ergonul 2006, Yukarı vd. 2011, Jameson vd. 2012).

Gonat histolojisi üreme sistemi hakkında temel bilgi sağladığından gonadın histolojik yapısının araştırılması ilgili canlının üreme biyolojisinin anlaşılmasında en doğru yöntemdir. Kenelerde üreme başarısı ve türün devamlılığı ovaryumun yapısı ve ovosit gelişimiyle doğrudan ilişkilidir. Bir dişi kenenin binlerce yumurta oluşturabilmesi ve vektörü olduğu zoonoz etkenlerini transovaryal olarak aktarabilmesi göz önüne alındığında, üreme biyolojisinin anlaşılması vektörü olduğu hastalıklar ile mücadeleye de katkı sağlayabilecektir. Bu nedenle, bu çalışmada *Hyalomma marginatum*'un ovaryumunun histolojik yapısı ve ovogenez sürecinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

Çalışmada *Hyalomma marginatum*'un doğal popülasyonları kullanıldı. Dişi keneler, Tarım ve Orman Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nün 04.02.2021 tarih ve E-21264211-288.04-350236 sayılı izniyle Kırklareli ilinin çeşitli köylerinden meraya çıkan ineklerin üzerinden toplandı. Ağırlıkları ölçülen keneler Gargılı vd. (2013)'nin çalışmasındaki verilere göre, ağırlığı 150 mg'dan az olanlar aç, 300-400 mg arasındakiler yarı tok ve 400 mg'dan fazla olanlar tok erişkin olmak üzere üç gruba ayrıldı. Çalışmada 10 adet yarı tok ve 10 adet tok yetişkin birey kullanıldı.

Keneler önce buzdolabında (4°C) 10 dakika bekletilerek termal şoka maruz bırakıldı ve sonra stereo mikroskop (Optika Microscopes, İtalya) altında 0.1 M PBS (diseksiyon medyumunu) içinde Edwards vd. (2009)'nin önerdiği gibi disekte edilerek ovaryumları çıkarıldı.

Ovaryumlar Bouin fiksatifinde 24 saat süreyle oda sıcaklığında tespit edildi. Rutin histolojik yöntem sonunda elde edilen parafin bloklardan 3-4 µm kalınlığında kesitler alındı. Ovaryum histolojisini belirlemek için, kesitler Hematoksilin-Eozin (HE) ve Masson'un üçlü boyası ile boyandı. Histokimyasal çalışmalarda kesitlere periyodik asit-Schiff (PAS), Alsiyan mavisi-PAS (AB-PAS) ve bromofenol mavisi boyama yöntemleri uygulandı. PAS reaksiyonu suda çözünmeyen polisakkaritleri, AB-PAS asidik polisakkaritleri ve bromofenol mavisi boyama da total proteini göstermek için yapıldı (Pearse 1985, Bancroft ve Gamble 2001).

Ovaryum ve ovosit çaplarını ölçmek için total ovaryum ve ovosit preparatları da hazırlandı. Total ovaryum preparatı hazırlamak için çıkarılan ovaryumdan bir parça kesilerek jelatinli lam üzerine yerleştirildi. %100'lük etanol ile 5 dakika tespit edildi ve sonra Giemsa ile 25 dakika boyandı. %100'lük etanolde ovaryum hafif mavi renk alıncaya kadar bekletildi. 10-15 kez ksilene batırılıp çıkarıldıktan sonra entellan ile kapatıldı. Total ovosit preparatları yayma yöntemi ile hazırlandı. Bunun için çıkarılan ovaryumlar bir lamel yardımı ile bir lam üzerine sıyrıldı. Lam 0.1 M PBS ile yıkanarak, üzerindeki

ovositler bir mikrosantrifüj tüpüne alındı. 200 g'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra çökelti 500 µl 0.1 M PBS ile sulandırıldı. Bu karışımdan hazırlanan yayma preparatlar yukarıda anlatıldığı gibi Giemsa ile boyandı (Bancroft ve Gamble 2001).

Histolojik ve histokimyasal gözlemlerin fotoğraflanması ve ovaryum ile ovosit çaplarını belirlemek için yapılan mikrometrik ölçümler dijital kamera taşıyan Leica ICC50 HD marka binoküler ışık mikroskobu ve Leica LAS EZ mikro görüntü ve ölçüm sistemi ile yapıldı.

3. Bulgular

Canlı incelemede, ovaryumun üzüm salkımı görünümde, ovositlerin kahverengi olduğu görüldü. Pigmentasyon longitudinal olukta açık, diğer kısımlarda koyuydu (Şekil 1A). Boru biçimindeki ovaryumun çapı 880 µm olarak ölçüldü. Giemsa boyanmış total ovaryum preparatlarında, longitudinal oluktaki ovositler küçük olup, sıkışıklıktan dolayı birbirlerine yaptıkları basınç nedeniyle poligonol şekilli idi. Longitudinal oluğun karşı tarafındaki ovaryum kısmında bulunan ovositler daha büyük olup, eliptik veya küresel şekilli idi ve çekirdeklerinin merkezden kaymış (eksentrik) olduğu barizdi (Şekil 1B). Ovaryumdan boyuna geçen kesitlerde ovaryumun, içi boş bir boru şeklinde olduğu, lümenin ovaryum boyunca uzandığı, gelişmekte olan ovositlerin hemosöle doğru çıkıntı yaptığı açıkça görülmekteydi (Şekil 1C).

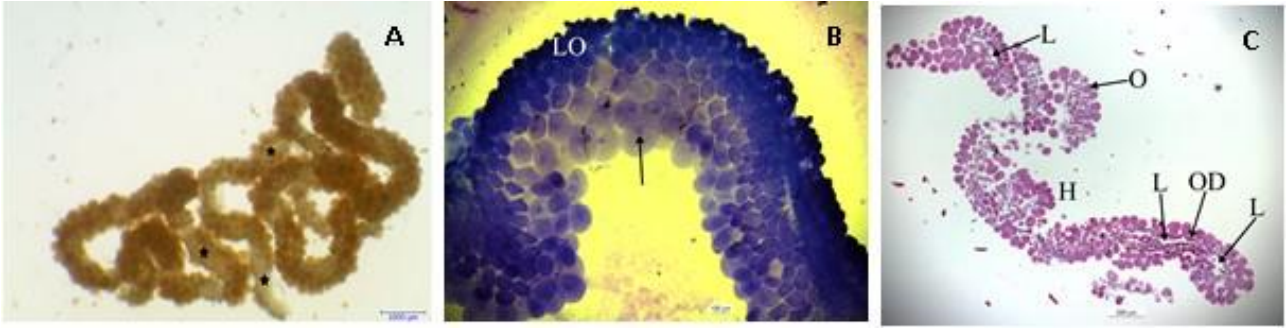
Ovaryumun lümenini çeviren ovaryum duvarında epitel hücreleri, gelişen primer ovositler ve bu ovositleri ovaryum duvarına bağlayan pedisel hücreleri bulunmaktaydı. Ovaryum duvarının epitel hücreleri tek sıra oluşturmaktaydı ve şekilleri kübik veya alçak kübikti (Şekil 2).

Pedisel hücreleri oluşturdukları sap ile gelişen ovositleri ovaryum duvarına bağlamaktaydı. Her pedisel sadece bir ovosit taşımaktaydı. Ovosit ile temas eden pedisel hücreleri silindirik şekilli idi ve vakuolizasyon gösteriyordu. Ovaryum duvarına yakın pedisel hücrelerinin sitoplazması ise daha eozinofilikti (Şekil 3).

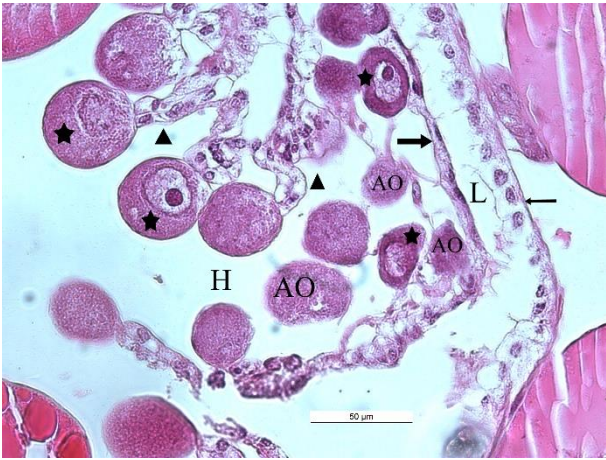
Ovaryum duvarında bulunan ovositler ovogenezin farklı evrelerinde olduklarından çok farklı morfolojilere sahipti. Bunlar Denardi ve ark. (2004)'nin kullandığı ölçütler (sitoplazmanın görünüşü, germinal vesikülün varlığı, yumurta sarısı granüllerinin varlığı ve bileşimi, koryonun oluşumu)'e göre dört farklı evreye ayrıldı.

I. Evre Ovositler: Bu ovositler en küçük ovositler olup, 20-30 µm çapa sahipti. Küresel veya eliptik şekilli idi. Çekirdeği germinal vesikül halindeydi. Germinal vesikülde eksentrik konumlu tek bir çekirdekçik bulunmaktaydı. Sitoplazmalarında yumurta sarısı içermedikleri için previtellogenik ovositler olarak kabul edildi (Şekil 4).

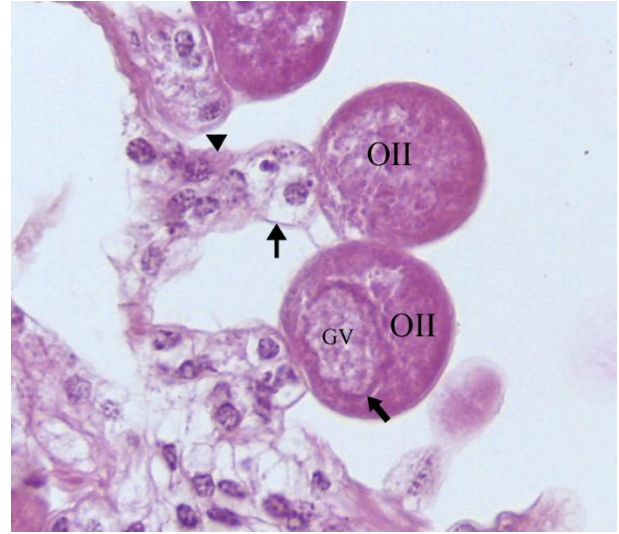
II. Evre Ovositler: Pedisel ile ovaryum duvarına bağlanan bu ovositler 50-65 µm büyüklükteydi. Küresel veya eliptik şekilli olup, germinal vesikül halindeki çekirdeğinde tek bir çekirdekçik içermekteydi. Çekirdekçik farklı boyanma özelliklerine sahip iki kısımdan ibaret amfinukleolus yapısındaydı. Karyozom olarak adlandırılan koyu kısım, plazmozom adı verilen açık kısmı yarımay şeklinde sarmaktaydı (Şekil 5). Pedisele yakın olacak şekilde konumlanmış çekirdeğin zarı girintili çıkıntılıydı ve kalınlaşmış olarak görünüyordu (Şekil 3). II. evre ovositler erken vitellogeniz evresindeydi. Sitoplazmada PAS ve bromofenol mavisi ile boyanan ince granüler bir materyal vardı. Bu materyalin protein yapısında olanı sitoplazmada homojen dağılım gösterirken (Şekil 6A), karbonhidrat yapıda olanı daha çok apikal sitoplazmada yerleşmişti (Şekil 6B).



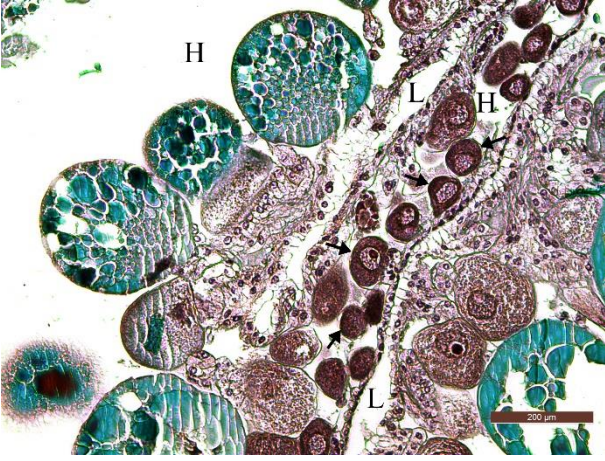
Şekil 1. A) Ovaryumun üzüm salkımı şeklindeki görünümü. Canlı ovaryumda büyük ovositlerde kahverengi bir pigmentasyon varken, longitudinal oluk (yıldız) daha açık renk görülmektedir. B) Total ovaryumdan bir kısım. LO: Longitudinal oluk, →: Çekirdek. Giemsa boyama. C) Ovaryumun bir kısmından geçen boyuna kesit. H: Hemosöl, L: Lümen, O: Ovosit, OD: Ovaryum duvarı. HE boyama.



Şekil 2. Ovaryum duvarını oluşturan kübik veya alçak kübik epitel hücreleri, gelişmekte olan ovositler, ovositleri ovaryum duvarına bağlayan pedisel ve atretik ovositler. AO: Atretik ovosit, H: Hemosöl, L: Lümen, Yıldız: Gelişmekte olan ovosit, ►: Pedisel, →: Kübik epitel hücreleri, ➔: Alçak kübik epitel hücreleri. HE boyama.



Şekil 3. Ovosit ile temas eden pedisel hücrelerinde (→) vakuolizasyon. Sitoplazması daha eozinofilik olan ovaryum duvarına yakın pedisel hücreleri (►). II. evre ovositte (OII) pedisele yakın yerleşmiş germinal vesikül (GV), çekirdek zarında kalınlaşma ve girinti çıkıntılar (➔). HE boyama.



Şekil 4. Küresel veya eliptik şekilli I. evre ovositler (→). H: Hemosöl, L: Lümen. Masson'un üçlü boyası.



Şekil 5. II. evre ovositlerde amfinukleolus yapısındaki çekirdekçik (→). OII: II. evre ovosit, GV: Germinal vesikül. HE boyama.

III. Evre Ovositler: II. evre ovositlerle aynı morfolojiye sahip bu ovositler biraz daha büyük olup, 50-65 µm çapındaydı. Pedisel ile ovaryum duvarına bağlıydı. Esas olarak yumurta sarısı içeriğiyle II. evre ovositlerden ayrıldı. PAS ile boyanan kesitlerde, karbonhidrat yapıda, küçük yumurta sarısı granülleriyle dolu sitoplazması ile II. evre ovositlerden farklılık gösterdi. Yumurta sarısı granüllerinin miktarı ve ölçüsü nedeniyle orta vitellogenik ovosit olarak değerlendirildi. Koryon ilk olarak bu evredeki ovositlerde gözlemlendi (Şekil 6B).

IV. Evre Ovositler: Geç vitellogenik evredeki bu ovositler 110 µm'dan daha büyüktü. Ovaryum duvarına tek sıra hücrelerden ibaret bir pedisel ile

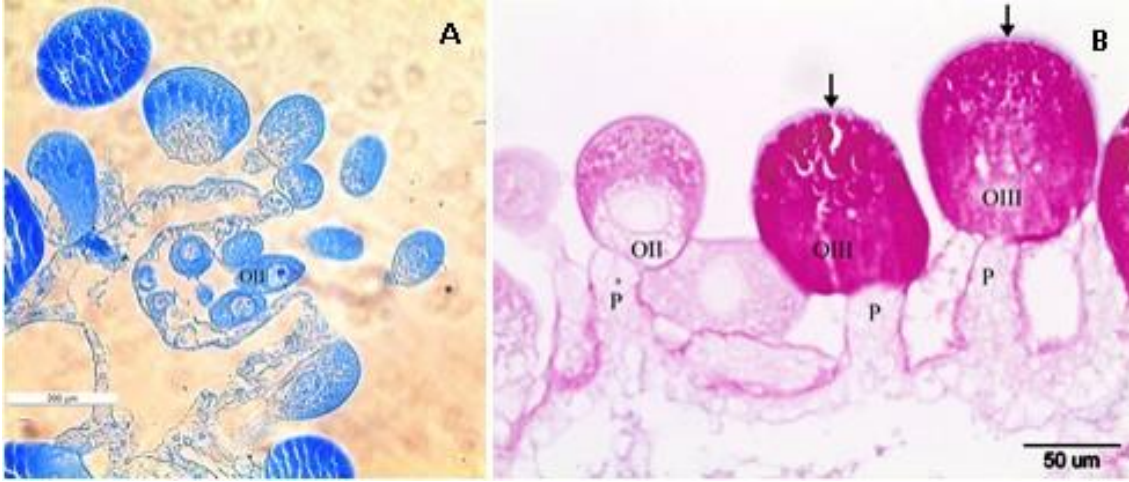
bağlıydı. Sitoplazma tamamen çeşitli büyüklükte yumurta sarısı granülleriyle doluydu. Germinal vesikül görünmüyordu. 60 µm büyüklükte olabilen yumurta sarısı granülleri birbirlerine yaptıkları basınç nedeniyle poligonaldi ve ovositin orta kısmına yerleşmişti. Daha küçük yumurta sarısı granülleri ise çevrede konumlanmıştı. Kesitlerde küçük yumurta sarısı granüllerinin büyük yumurta sarısı granüllerine katıldıkları görülmekteydi. Yumurta sarısı granüllerinin kimyasal yapısı glikoproteindi, çünkü PAS, AB-PAS ve bromofenol mavisi boyamalarında kuvvetli reaksiyon görülmüştü. Ovositler koryon ile çevriliydi (Şekil 7A, Şekil 7B, Şekil 7C).

Yumurta sarısının kimyasal yapısını belirlemek için yapılan boyamalardan yumurta örtüsü kimyasına ait bulgular da elde edildi. Buna göre, koryon *Hyalomma marginatum*'da baskın olarak asidik polisakaritler içermekte, protein ise bulunmamaktaydı (Şekil 7B, Şekil 7C).

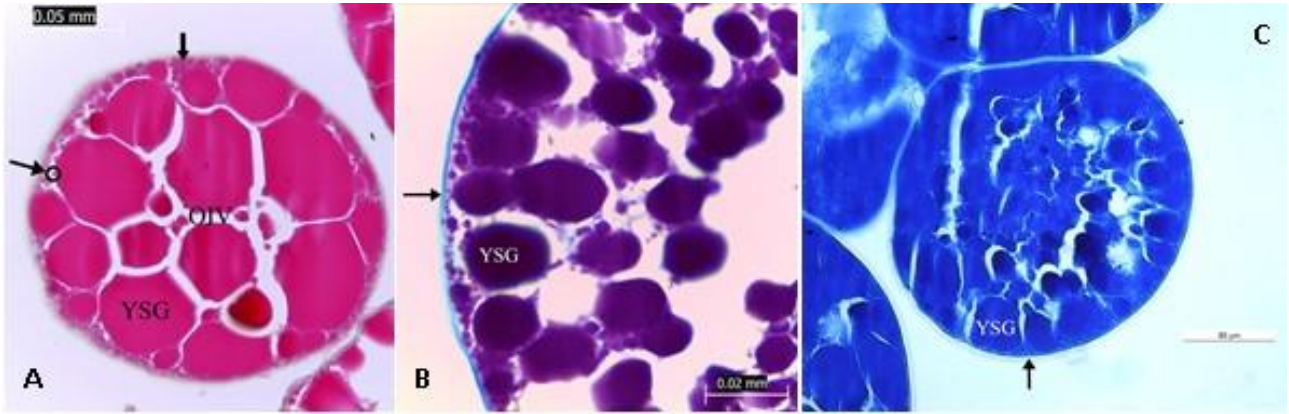
Ovaryum duvarında, çok yoğun olmasa da yozlaşan (atretik) ovositler de görüldü. Bu ovositler düzensiz bir hatta sahipti ve sitoplazmik dezorganizasyon gösteriyordu (Şekil 2, Şekil 8).

Yayma yöntemi ile hazırlanan total oosit preparatlarında IV. evre ovositlerin çekirdekleri eksentrikti. Ovositler küresel ya da yakın eliptikti ve en büyük ovosit 315x295 µm çapındaydı (Şekil 1B, Şekil 9). Çekirdeğin eksentrik ve yumurta sarısının da çekirdek etrafında bulunmasından dolayı *Hyalomma marginatum*'un yumurtası sentrolesital olarak kabul edildi.

Tüm bu bulgular hem yarı tok hem de tok olan kenelerde benzerdi.



Şekil 6. A) II. evre ovositlerde sitoplazmada homojen dağılım gösteren ince granüler protein materyali. OII: II. evre ovosit. Bromofenol mavisi boyama. B) Apikal sitoplazmada yerleşmiş karbonhidrat içeriğe sahip II. evre ovosit (OII). Sitoplazması karbonhidrat yapıda, küçük yumurta sarısı granüllerle dolu III. evre ovositler (OIII) ve bu ovositler etrafındaki koryon (→). P: Pedisel. AB-PAS boyama.



Şekil 7. A) IV. evre ovosit (OIV). Çevresel sitoplazmada küçük yumurta sarısı granülleri (→), büyük yumurta sarısı granüllerine (YSG) katılan küçük yumurta sarısı granülleri (→). HE boyama. B) IV. evre ovositte karbonhidrat içerikli yumurta sarısı granülleri (YSG) ve koryon (→). AB-PAS boyama. C) IV. evre ovositte protein içerikli yumurta sarısı granülleri (YSG), protein içermeyen koryon (→). Bromofenol mavisi boyama.

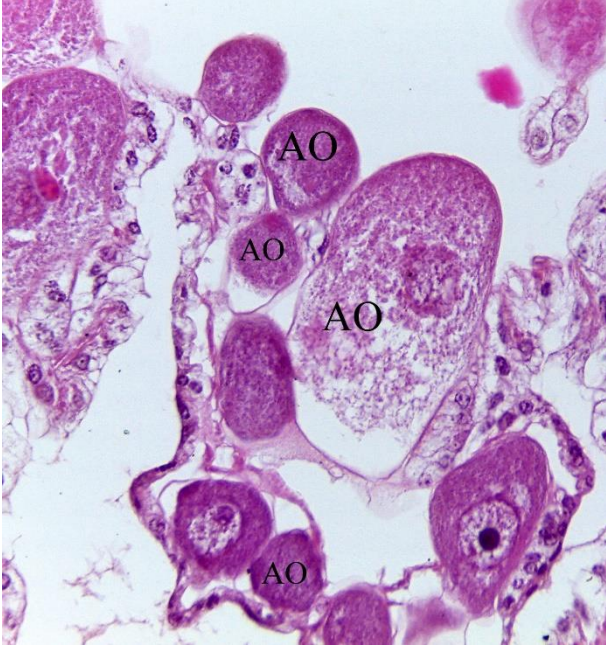
4. Tartışma ve Sonuç

Hyalomma marginatum'un ovaryum yapısı ilk kez bu çalışma ile ışık mikroskobu düzeyinde histolojik ve histokimyasal olarak incelenmiştir. Diğer türlerde (Sonenshine ve Roe 2014, Yaman 2014, Kanapadinchareveetil vd. 2015, 2019, Sreelekha vd. 2015, Mihara vd. 2018, de Oliveira vd. 2019, Koniga vd. 2019) olduğu gibi, *Hyalomma marginatum*'da da ovaryum at nalı, diğer bir tarifle U şeklinde olup, tüp biçimindedir. Ovositler gelişimleri sırasında büyümeye devam ederken hemosöle doğru çıkıntı

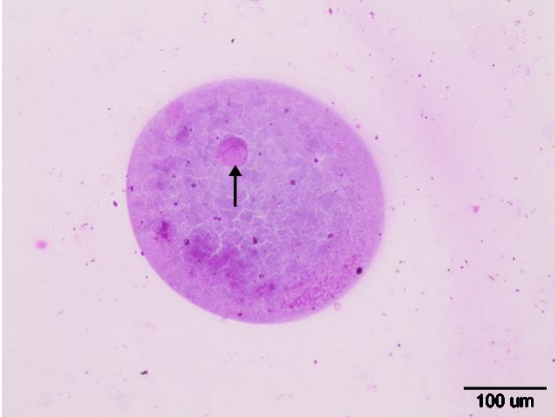
yaptıklarından, tüp biçimindeki ovaryum üzüm salkımı şeklinde görünür.

Böceklerde, ovogenezde yardımcı hücre olarak görev yapan nurse hücrelerinin bulunup bulunmamasına göre iki esas tip ovaryum tanımlanmış olup, bunlar meroistik ve panoistik olarak adlandırılır. Meroistik ovaryumlarda nurse hücreleri bulunurken, panoistik ovaryumlarda bulunmaz (Gullan ve Cranston 2005). Böceklerin yakın akrabası olması nedeniyle kenelerde de ovaryum böcek ovaryumu gibi nitelendirilmiş ve hem nurse hem de folikül hücresi içermediğinden

ovaryum panoistik olarak tanımlanmıştır (Denardi vd. 2004, de Oliveira vd. 2006, Ricardo vd. 2007, Sanches vd. 2010, 2012). Bu nedenle *Hyalomma marginatum*'da da ovaryum panoistiktir.



Şekil 8. Ovosit gelişiminin çeşitli evrelerindeyken yozlaşmaya uğrayan ovositler. AO: Atretik ovosit. HE boyama.



Şekil 9. Küresele yakın eliptik şekilli ve eksentrik çekirdekli (→) total ovosit. Giemsa boyama.

Gelişmekte olan ovositleri ovaryum duvarına bağlayan pedisel, ovaryum duvarındaki epitel hücrelerinin çoğalması ve uzamasıyla oluşur (Diehl vd. 1982, Ricardo vd. 2007). *Amblyomma rotundatum*'da bir pedisele birden fazla ovosit bağlı olabilmektedir, oysa araştırılan diğer türlerde bir pedisel sadece bir ovosite bağlıdır (Sanches vd. 2012). *Hyalomma marginatum*'da da her pediselin

sadece bir ovositi ovaryum duvarına bağladığı gözlenmiştir.

Kenelerde ovosit gelişimi eşzamanlı değildir, bu nedenle ovaryumda farklı gelişim evrelerinde olan ovositlere rastlanır ve bu farklı evreler vitellogenizin farklı evrelerini temsil eder. Bu çalışmada ovosit sınıflandırmasında sitoplazmanın görünüşü, germinal vesikülün varlığı, yumurta sarısı granüllerinin bileşimi ve koryonun oluşumu esas alınmış olup, dört evre tanımlanmıştır. Özellikle II. ve III. evre ovositler yumurta sarısı histokimyasıyla ayırt edilmiştir.

Ökromatik özellikte olan germinal vesikül, hemen tüm hayvan türlerinde ovosit gelişiminin erken evrelerinde görülen önemli bir sitolojik özelliktir. Germinal vesikülün zarı previtellogenik ovositlerde düzken, vitellogenik ovositlerde girintili çıkıntılı olur. Bu durum ovosit çekirdeğine loplular bir görünüm verir (Wourms 1987). Tüm bu özellikler, *Hyalomma marginatum* ovosit çekirdeğinde de gözlenmiştir. *Boophilus microplus* (Saito vd. 2005) ve *Amblyomma triste* (de Oliveira vd. 2007) ovaryumunun elektron mikroskobu incelemelerinde germinal vesikül etrafında ribozom miktarında ve çekirdek zarı porlarından geçen materyal miktarında artış tespit edilmiştir. *Hyalomma marginatum*'da özellikle II. ve III. evredeki ovositlerde çekirdek zarında görülen kalınlaşma bu materyal miktarındaki artışla ilgili olabilir.

Önceki çalışmalar kenelerde yumurta sarısı içeriğinin sadece lipit ve proteinlerden ibaret olduğunu belirtse de (Diehl vd. 1982), son yıllardaki çalışmalar hem lipit hem protein ve hem de karbonhidratların yumurta sarısında bulunduğunu göstermiştir. *Rhipicephalus sanguineus*'ta yumurta sarısı granülleri her üç molekülü de içerirken (de Oliveira vd. 2005), *Boophilus microplus*'ta yumurta sarısı granülleri glikoproteinden ibaret olup, lipit sitoplazmada bu granüller arasında bulunur (Saito vd. 2005). Vitellogenez evresinde ilk olarak lipitlerin, daha sonra proteinlerin ve nihayetinde karbonhidratların sentezlendiği *Amblyomma cajennense* (Denardi vd. 2004), *Rhipicephalus sanguineus* (de Oliveira vd. 2005) ve *Amblyomma triste* (Ricardo vd. 2007)'de histokimyasal olarak

tespit edilmiştir. Bu çalışmada *Hyalomma marginatum*'da yumurta sarısının bileşimi sadece protein ve karbonhidrat yönünden histokimyasal olarak belirlenmiş olup, yumurta sarısı granüllerinde hem proteinlerin hem de karbonhidratların bulunduğu, diğer çalışmaların aksine vitellogenizde karbonhidratların proteinlerden önce sentezlendiği tespit edilmiştir.

Koryon *Amblyomma triste* (Ricardo vd. 2007) ve *Amblyomma cajennense*'de (Denardi vd. 2004) protein, lipit ve karbonhidrattan yapıdır. *Rhipicephalus sanguineus* (de Oliveira vd. 2005) ve *Boophilus microplus*'ta (Saito vd. 2005) ise koryonun lipoprotein yapısında olduğu açığa çıkarılmıştır. *Hyalomma marginatum*'da koryonun ağırlıklı olarak karbonhidrat yapıda olduğu görülmüştür.

Daha çok geç vitellogenik ovositler ile olgun ovositlerde rastlansa da ovosit yozlaşması (dejenerasyonu) ovosit gelişiminin her evresinde meydana gelebilmektedir (Wourms 1987). Ovosit yozlaşması kene ovogenezinde de gözlenen bir olaydır. *Amblyomma cajennense* (Denardi vd. 2004), *Rhipicephalus sanguineus* (de Oliveira vd. 2005), *Boophilus microplus* (Saito vd. 2005) ve *Amblyomma brasiliense* (Sanches vd. 2010)'de yozlaşan ovosit sayısının az olduğu, buna karşın *Amblyomma rotundatum*'da oldukça fazla sayıda ovositin yozlaştığı bildirilmiştir (Sanches vd. 2012). *Hyalomma marginatum*'da ovosit yozlaşmasının çok yaygın olmadığı görülmüştür.

Hyalomma marginatum'un ovaryum yapısı ve ovogenezini ilk kez bu çalışma ile ışık mikroskobu düzeyinde incelenmiştir. Ancak, yumurta sarısı öncü maddelerinin ovosite taşınması, yumurta sarısının biyosentezi ve birikimi gibi vitellogenik mekanizmaların anlaşılması ve pedisel hücrelerinin ovogenezdeki ayrıntılı rolünün açığa çıkarılması için muhakkak ince yapı düzeyinde araştırmaların yapılması gereklidir.

Teşekkür

Kene örneklerimizi toplayan ve teşhisini yapan bölümümüz öğretim üyesi Prof. Dr. Sırrı Kar'a teşekkür ederiz.

5. Kaynaklar

- Anderson, J.F. ve Magnarelli, L.A. 2008. Biology of ticks. *Infectious Disease Clinics of North America*, **22**, 195-215.
- Bakırcı, S., Sarali, H., Aydın, L., Latif, A., Eren, H. ve Karagenc, T. 2011. *Hyalomma rufipes* (Koch, 1844) infesting cattle in the West Aegean region of Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **35(5)**, 359-363.
- Bancroft, J.D. ve Gamble, M. 2001. Theory and practice of histological techniques, 5th ed., Churchill Livingstone, 125-242.
- de Oliveira, P.R., Bechara, G.H., Denardi, S.E., Nunes, E.T. ve Camargo Mathias, M.I. 2005. Morphological characterization of the ovary and oocytes vitellogenesis of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Experimental Parasitology*, **110(2)**, 146-156.
- de Oliveira, P.R., Camargo Mathias, M.I. ve Bechara, G.H. 2006. *Amblyomma triste* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae): Morphological description of the ovary and of vitellogenesis. *Experimental Parasitology*, **113**, 179-185.
- de Oliveira, P.R., Bechara, G.H. ve Camargo Mathias, M.I. 2007. *Amblyomma triste* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae) ovaries: An ultrastructural analysis. *Experimental Parasitology*, **116**, 407-413.
- de Oliveira, P.R., Anholeto, L.A., Ferreira Rodrigues, R.A., Arnosti, A., Bechara, G.H., de Carvalho Castro, K.N. ve Camargo-Mathias, M.I. 2019. Cytotoxic effects of extract of *Acmella oleracea* in the ovaries and midgut of *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 (Acari: Ixodidae) female ticks. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, **7(1)**, 28-43.
- Denardi, S.E., Bechara, G.H., Oliveira, P.R., Nunes, E.T., Saito, K.C. ve Mathias, M.I. 2004. Morphological characterization of the ovary and vitellogenesis dynamics in the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, **125**, 379-395.
- Diehl, P.A., Aeschlimann, A. ve Obenchain, F.D. 1982. Chapter 9: Tick reproduction: oogenesis and oviposition, Physiology of Ticks, (Current Themes in Tropical Science, Volume 1), Ed: F.D. Obenchain, R. Galun, Pergamon Press, Oxford, 277-350.

- Edwards, K.T., Goddard, J. ve Varela-Stokes, A.S. 2009. Examination of the internal morphology of the ixodid tick, *Amblyomma maculatum* Koch, (Acari: Ixodidae); a "How-to" Pictorial Dissection Guide. *Midsouth Entomologist*, **2**, 28-39.
- Ergonul, O. 2006. Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Lancet Infectious Diseases*, **6**, 203-214.
- Estrada-Peña, A. ve Jongejan, F. 1999. Ticks feeding on humans: A review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. *Experimental and Applied Acarology*, **23**, 685-715.
- Gargılı, A., Kar, S., Yilmazer, N., Cerit, Ç., Sönmez, G., Şahin, F., Günseli Alp, H. ve Vatansver, Z. 2010. Evaluation of ticks biting humans in Thrace province, Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **16(Suppl-A)**, 141-146.
- Gargili, A., Thangamani, S. ve Bente, D. 2013. Influence of laboratory animal hosts on the life cycle of *Hyalomma marginatum* and implications for an in vivo transmission model for Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, Volume **3**, Article 39.
- Ghosh, S., Azhahianambi, P. ve Yadav, M.P. 2007. Upcoming and future strategies of tick control: a review. *Journal of Vector Borne Diseases*, **44**, 79-89.
- Gullan, P.J. ve Cranston, P.S. 2005. The insects: An outline of entomology, 4th Edition, Blackwell Publishing Ltd, USA, 53-90.
- Güler, S. 1982. Ankara ve civarındaki koyun ve keçilerde kış ixodidaeleri üzerine araştırmalar. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **1**, 45-54.
- Güler, S., Özer, E., Erdoğan, S.Z., Köroğlu, E. ve Bektaş, İ. 1993. Malatya ve bazı Güneydoğu Anadolu illerinde sığır, koyun ve keçilerde bulunan kene (Ixodidea) türleri. *Doğa Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **17**, 229-231.
- Jameson, L.J., Morgan, P.J., Medlock, J.M., Watola, G. ve Vauxa, A.G. 2012. Importation of *Hyalomma marginatum*, vector of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus, into the United Kingdom by migratory birds. *Ticks and Tick-borne Diseases*, **3**, 95-99.
- Jongejan, F. ve Uilenberg, G. 2004. The global importance of ticks. *Parasitology*, **129**, 3-14.
- Kanapadinchareveetil, S., Chandrasekhar, L., Gopi, J., Lenka, D.R., Vasu, A., KGopalan, A.K., Nair, S.N., Ravindran, R., Juliet, S. ve Ghosh, S. 2015. Histoarchitecture of the ovary of *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* during pre- and postengorgement period. *The Scientific World Journal*, 126584.
- Kanapadinchareveetil S, Chandrasekhar L, Pious A, Kartha HS, Ravindran R, Juliet S, Nair SN, Ajithkumar KG, Ghosh S. 2019. Molecular, histological and ultrastructural characterization of cytotoxic effects of amitraz on the ovaries of engorged females of *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. *Experimental Parasitology*, **204**, 107732.
- Koniga, I.F.M., Gonçalves, R.R.P., Oliveira, M.V.S., Silva, C.M., Thomasi, S.S., Peconick, A.P. ve Remedio, R.N. 2019. Sublethal concentrations of acetylcarvacrol strongly impact oocyte development of engorged female cattle ticks *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae). *Ticks and Tick-borne Diseases*, **10**, 766-774.
- Labuda, M. ve Nuttall, P.A. 2004. Tick-borne viruses. *Parasitology*, **129**, 221-245.
- Mihara, R., Umemiya-Shirafuji, R., Abe, Y., Matsuo, T., Horiuchi, N., Kawano, S., Fujisaki, K. ve Suzuki, H. 2018. The development of oocytes in the ovary of a parthenogenetic tick, *Haemaphysalis longicornis*. *Parasitology International*, **67(4)**, 465-471.
- Pearse, A.G.E. 1985. Histochemistry theoretical and applied. Livingstone, Churchill, 123-214.
- Ricardo, A.J., de Oliveira, P.R., Bechara, G.H. ve Mathias, M.I. 2007. Ultrastructural detection of proteins, lipids and carbohydrates in oocytes of *Amblyomma triste* (Koch, 1844) (Acari; Ixodidae) during the vitellogenesis process. *Tissue and Cell*, **39**, 203-215.
- Rymaszewska, A. 2007. Symbiotic bacteria in oocyte and ovarian cell mitochondria of the tick *Ixodes ricinus*: biology and phylogenetic position. *Parasitology Research*, **100**, 917-920.
- Saito, K.C., Bechara, G.H., Nunes, E.T., de Oliveira, P.R., Denardi, S.E. ve Camargo Mathias, M.I. 2005. Morphological, histological, and ultrastructural

studies of the ovary of the cattle-tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, **129**, 299-311.

Sanches, G.S., Bechara, G.H. ve Camargo Mathias, M.I. 2010. Ovary and oocyte maturation of the tick *Amblyomma brasiliense* Aragão, 1908 (Acari: Ixodidae). *Micron*, **41**, 84-89.

Sanches, G.S., Araujo, A.M., Martins, T.F., Bechara, G.H., Labruna, M.B., Camargo Mathias, M.I. 2012. Morphological records of oocyte maturation in the parthenogenetic tick *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Ticks and Tick-borne Diseases*, **3**, 59-64.

Sonenshine, D.E. ve Roe, R.M. 2014. Biology of ticks, Volume 1, Second Edition. Oxford University Press, New York, 449-483.

Sreelekha, K.P., Chandrasekhar, L., Jyothimol, G., Lenka, D.R., Aswathi, V., Adarshkrishna, T.P., Ajithkumar, K.G., Nair, S.N., Ravindran, R., Juliet, S. ve Ghosh, S. 2015. Histoarchitecture of ovary of *Haemaphysalis bispinosa* during engorgement period. *Tropical Biomedicine*, **32(3)**, 497-503.

Wourms, J.P. 1987. Oogenesis. Reproduction of marine invertebrates. Vol. IX. General aspects: seeking unity in diversity, Ed: A.C. Giese, J.S. Pearse, V.B. Pearse, Blackwell Scientific Publications, the Boxwood Press, 50-157.

Yaman, E. 2014. *Hyalomma marginatum* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae)'un ovaryumunun histolojik yapısı. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, 57.

Yilmazer, N. 2018. The genome size of some species of *Hyalomma* ticks from Turkish Thrace. *Systematic and Applied Acarology*, **23(11)**, 2122-2128.

Yukarı, B.A., Nalbantoğlu, S., Karaer, Z., İnci, A., Eren, H. ve Sayın, F. 2011. Laboratuvarda *Hyalomma marginatum*'un bazı biyolojik özellikleri. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **35**, 40-42.