

Laboratuvarda *Hyalomma marginatum*'un Bazı Biyolojik Özellikleri

Some Biological Features of *Hyalomma marginatum* in the Laboratory

Bayram Ali Yukarı¹, Serpil Nalbantoğlu², Zafer Karaer², Abdullah İnci³, Hasan Eren⁴, Fahri Sayın²

¹Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye

²Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

⁴Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

ÖZET

Amaç: Bu çalışma Dünya'da ve ülkemizde önemli vektörlerden olan *Hyalomma marginatum*'un laboratuvarda bazı biyolojik özelliklerini araştırmak üzere planlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmaya daha önce sahadan sığırlar üzerinden toplanan ve bir nesil laboratuvarda yetiştirilerek laboratuvara adapte edilmeye çalışılan *H. marginatum* erginleri ile başlanmıştır. Aç ergin keneler ve aç larvalar tavşan, aç nymphler ise dana kulağında beslenmiştir. Bu kene türünün kan emme dışındaki biyolojik gelişim safhaları 28 °C ısı ve % 85 Nisbi nem ortamında inkübatörde geçmiş, aç aktif safhaları ise daha uzun süreli muhafaza amacıyla 18°C ısı ve %85 Nisbi nem ortamındaki inkübatörde tutulmuşlardır.

Bulgular: Aç dişiler tavşanlarda ortalama 15 günde doyup düşmüşler, 20.5 gün sonra yumurtlamaya başlamışlar ve 16 gün süreyle yumurtlamışlardır. Bu yumurtalardan ortalama 29 gün sonra çıkan larvalar 8.5 günde aktivite kazanmışlardır. Bu larvalar tavşanlarda 14.5 gün kan emmiş ve daha sonra doymuş nymph halinde bu hayvanları terk etmişlerdir. Bu nymphlerin ortalama 26 günde gömlek değiştirmesi sonucu oluşan aç ergin keneler ise ortalama 10 günde kitinleşmelerini tamamlayarak aktif hale gelmişlerdir.

Sonuç: Çalışma sonucunda *H. marginatum*'un tavşanlarda 2 konutlu davranış gösterdiği ve buna göre laboratuvar ortamında toplam hayat siklusunun 97 gün ile 182 gün arasında değiştiği ve ortalama 138.5 gün sürdüğü tespit edilmiştir. (*Türkiye Parazitol Derg 2011; 35: 40-2*)

Anahtar Sözcükler: *Hyalomma marginatum*, biyoloji, Türkiye

Geliş Tarihi: 02.11.2010

Kabul Tarihi: 07.01.2011

ABSTRACT

Objective: This study has been planned to investigate some biological features of *Hyalomma marginatum*, which is one of the important vectors in the world and in our country.

Methods: The study started with the adult *H. marginatum* which were collected from cattle in the field and attempts were made for these to be adapted to the laboratory by breeding in the laboratory throughout a generation. Unfed adult ticks and unfed larvae were bred on the rabbit ear while unfed nymphs were bred on the calf ear. The biologic development stages of this tick kind, except for sucking blood stage, passed in an incubator which was at a temperature of 28°C and 85% relative humidity, while the unfed active stages passed in an incubator which was at 18°C and 85% relative humidity to conserve for a long time.

Results: Unfed females on rabbits were full and fell in approximately 15 days, began to ovulate 20.5 days later and ovulated for 16 days. The larvae which hatched out approximately 29 days later became active in 8.5 days. These larvae sucked blood from rabbits for 14.5 days and abandoned these animals as full nymphs. Unfed adult ticks, which existed as a result of these nymphs casting off their skin in approximately 26 days, became active by completing their cutinization in approximately 10 days.

Conclusion: At the end of the study, it was determined that *H. marginatum* showed 2 different behaviors in rabbits. According to this, the total life cycle in the laboratory environment changed by between 97 and 182 days and lasted approximately 138.5 days. (*Türkiye Parazitol Derg 2011; 35: 40-2*)

Key Words: *Hyalomma marginatum*, biology, Turkey

Received: 02.11.2010

Accepted: 07.01.2011

16. Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde (1-7 Kasım 2009, Adana) sunulmuştur.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Bayram Ali Yukarı, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye

Tel: +90 248 213 21 30 E-posta: byukari@mehmetakif.edu.tr

doi:10.5152/tpd.2011.10

GİRİŞ

Keneler tropik ve subtropik iklim kuşaklarında bulunan ve kan emmek suretiyle bizzat kendileri parazitlendiği gibi birçok hastalık etkenine vektörlük yapmaları nedeniyle de hayvan ve insan sağlığını tehdit edebilen yaygın vektörlerdendir (1). Bunlar arasında Akdeniz havzası ile Orta Asya'da yaygın olan (2) ve Türkiye'de hemen her iklim bölgesinde bulunan (1) *Hyalomma marginatum*, insan ve hayvan sağlığını tehdit edebilen bazı hastalık etkenlerine vektörlük yapması nedeniyle son yıllarda öne çıkan kene türleri arasında yer almaktadır.

Bu çalışma laboratuvarında *H. marginatum*'un bazı biyolojik özelliklerini ortaya çıkarmak üzere planlanmış olup, çalışmadan elde edilecek sonuçların bu kene türü ve vektörü olduğu hastalık etkenleri ile mücadeleye katkı sağlayabileceği, keneler üzerinde deneysel çalışma planlayan araştırmacılara da yol gösterici olabileceği düşünülmüştür.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada bazı araştırmacıların (3-5) tarif ettiği gereç ve yöntemlerden yararlanılmıştır. Deney hayvanı olarak 6 aylık 2 adet tavşan ve 2.5 aylık dana kullanılmıştır. Çalışma için biri 28°C ısı ve %85 nisbi nem sağlayan diğeri de 18°C ısı ve %85 nisbi nem sağlayan 2 adet inkübatör ile diğeri bazı alet ve malzemelerden (saç kesme makinesi, eğri uçlu bir pens, makas, tıraş bıçağı, deri yapıştırıcı ve ipek flaster) yararlanılmıştır. Kene konulmadan bir gün önce dananın kulakları yıkanarak temizlenmiş, kulak içi kirleri özenle uzaklaştırılmış ve kulak dibi kılları çepeçevre tıraş edilmiştir. Tıraş edilen kısımlar %70'lik alkol emdirilen pamuk ile silinmiş ve 24 saat geçtikten sonra kulak torbası takılmıştır. Kulak torbasının kulağa tutturulmasında kullanılan yapıştırıcının kurumaması esnasında, içerdiği solvent ve taşıyıcı v.b. kimyasalların konak hayvan ve ortam ısısına bağlı olarak buharlaşması ve kulak torbasının kene konulmasından sonra üst açıklığının da kapatılması ile tamamen kapalı ortamda kalacak aç kenelerin kimyasal maddelerden etkilenerek kulağa tutunmalarının engellenmemesi amacıyla, kene konulmadan önce 24 saat daha beklenmiş ve kene konulduktan sonra kulak torbasının üst açıklığı flaster yardımı ile kapatılmıştır. Tavşanda ise yıkama ve alkol kullanımı söz konusu olmadığından bütün işlemler aynı anda gerçekleştirilmiştir.

Çalışmaya daha önce sahadan sığırlar üzerinden toplanan ve bir nesil laboratuvarında yetiştirilerek laboratuvara adapte edilmeye çalışan *H. marginatum* erginleri ile başlanmıştır. Aç ergin keneler ve aç larvalar tavşanda, aç nymphler ise danada, kulak torbaları içerisinde, hayvanların kulaklarında beslenmiştir. Tavşanda kene beslenmesi esnasında her kulağa 10 erkek ve 10 dişi olmak üzere 20 adet aç olgun kene konulmuş, larvaların beslenmesi için ise her kulağa ortalama 1000 kadar aç larva bırakılmıştır. Özel olarak elde edilen aç nymphler ise danada beslenmeleri için her kulağa 200 kadar konulmuştur. Kene beslendiği sürece, kene konulan hayvanların bulunduğu ortamın nemli olması için zemin ıslak tutulmuştur.

H. marginatum'un deney hayvanlarının kulaklarında beslenirken doyup düşen larva nymph ve erginlerinin gün içinde kısa aralıklarla toplanmasına özen gösterilmiştir. Toplanan doymuş nymphler gömlek değiştirmeleri, ergin dişiler ise yumurtlamaları için ağız pamukla kapatılan steril şişeler içerisinde 28°C ısı ve %85 nisbi

nem ortamındaki inkübatöre konulmuşlardır. Aynı şekilde tam doymuş halde özel olarak elle toplanan larvalar da gömlek değiştirmek üzere bu inkübatöre alınmışlardır. Gömlek değiştiren ve aktifleşen her gelişme dönemindeki aç keneler, uzun süreli muhafaza amacıyla 18°C ısı ve %85 nisbi nem sağlayan inkübatörde tutulmuşlardır.

Tavşanlarda doğal şartlarda (2 konutlu özellik göstermesi nedeniyle) *H. marginatum*'un aç nymphlerinin elde edilmesi mümkün olmadığından, tam doymuş hale gelen larvalar (henüz gömlek değiştirmeden) kan emdikleri tavşanın kulağından eğri uçlu küçük bir pens kullanılarak elle toplanmıştır. Bunlar kurutma kâğıdı üzerine alınmış, kıl ve diğer artıkları ayıklanarak uzaklaştırılmıştır. Bu larvalar mantar üremesini engellemek üzere kulak kirlerinden arındırmak için, orta büyüklükte steril bir tel süzgeç içerisinde basınçsız akan çeşme suyu altında, üzerlerinde parmak gezdirilerek dikkatlice yıkanmıştır. Temizlenen ve birbirinden ayrılan doymuş larvalar kurutulmak üzere temiz bir kurutma kâğıdı üzerine dökülmüş, yine üzerlerinde parmak gezdirilerek yuvarlamak suretiyle ıslaklıkları giderilmiştir. Kurutma kâğıdı üzerinden ağız pamukla kapatılan steril şişelere aktarılan larvalar gömlek değiştirmeleri için inkübatöre (28°C ısı ve %85 nisbi nem ortamında) konulmuşlardır. Daha sonra ilk 5 saat her saat başında şişeler kendi etrafında elle döndürülerek larvaların tam kurumadan birbirine yapışması engellenmiş, bu uygulama daha sonraki 3- 5 günde, günlük olarak tekrarlanmıştır. Temizleme ve yıkama işlemleri, dana kulağında beslenen ve doyup düşen nymphler ile tavşan kulağında beslenen ve doyup düşen erginlere de uygulanmıştır.

BULGULAR

Çalışma sonucunda *H. marginatum*'un tavşanlarda doğal olarak 2 konutlu davranış gösterdiği ve buna göre laboratuvar ortamında toplam hayat siklusunun 97 gün ile 182 gün arasında değiştiği ve ortalama 138.5 gün sürdüğü görülmüştür. Bazı deneysel çalışmalar için aç nymph elde etmek üzere tavşan kulağından doymuş larva aşamasında doğal olmayan yolla (pens kullanılarak zorla) toplanan larvaların biyolojik gelişim evresine dahil edilmesi durumunda ise (3 konaklı) toplam hayat siklusu 110 gün ile 201 gün arasında değişmiş ve ortalama 155.5 gün olarak gerçekleşmiştir. Bu türün tavşan ve dana üzerindeki beslenme ve laboratuvarında biyolojik gelişme dönemleri ile ilgili değerler Tablo 1'de verilmiştir.

Düşük dereceli inkübatöre konulan aç larvalar 5 ay, aç nymphler 4 ay, aç erginler ise 10 ay kadar canlılıklarını sürdürmüşlerdir.

TARTIŞMA

Bu çalışmada bazı araştırmacıların (3-5) tarif ettiği gereç ve yöntemlerden yararlanılmış olmakla birlikte, bu yöntemlerin üzerine ilave edilen bazı yeni uygulamalar ile kullanılan yöntemlerin detaylarına özellikle yer verilmiştir. Böylece laboratuvarında kene üretimi, koloni oluşturulması ve muhafazası üzerine çalışma yapan (yapmayı düşünen) araştırmacılara karşılaşılabilecekleri güçlüklerin aşılmasına yardımcı olunabileceği düşünülmüştür. Bu durum değerlendirildiğinde kaleme alınan bu çalışmanın önemli bir kısmını, gereç ve yöntemin oluşturulması daha kolay anlaşılacaktır. Bu detaylara göre örneğin, her gelişme dönemindeki doymuş halde düşen bütün keneler çeşme suyu altında yıkanmış ve kurutulduktan sonra biyolojik gelişmelerinin devamı için inkübatöre konulmuşlardır. Böylece

Tablo 1. *Hyalomma marginatum*'un laboratuvarda biyolojik gelişme dönemleri ile ilgili veriler

Biyolojik gelişme dönemleri ile ilgili parametreler	Değerler (gün)
Aç dişilerin beslenme süresi	15 (9-21) **
Yumurtlama öncesi geçen süre	20.5 (13-28)
Yumurtlama süresi	16 (8-24)
Yumurtalardan larva çıkma süresi	29 (24-34)
Aç larvaların aktifleşme süresi	8.5 (7-10)
Aç larvaların doyma süresi	7 (6-8) ***
Doymuş larvaların gömlek değiştirme süresi	8 (6-10)
Aç nymphlerin aktifleşme süresi	5 (3-7)
Aç nymphlerin doyup düşme süresi	10.5 (8-13)*
Aç larvaların doymuş nymph olarak doyup düşme süresi	14.5 (10-19)**
Doymuş nymphlerin gömlek değiştirme süresi	26 (18-34)
Aç erginlerin aktifleşme süresi	10 (8-12)
2 konaklı toplam hayat siklusu	138.5 (97-182)
3 konaklı toplam hayat siklusu	155.5 (110-201)****
*: Dana üzerinde beslendi **: Tavşan üzerinde beslendi ***: Pensle zorla toplandı ****: Doğal olmayan (doymuş larvaların pens ile toplanması durumunda) yolla	

gömlek değiştiren larva (aç nymph) ve nymphler (aç ergin) aktifleşmelerinden sonra, üzerlerinde mantar üremesi ve dolayısı ile kenelerin kısa sürede ölmesi engellenmiştir.

Yine gün içinde belirli aralıklarla doymuş larva, nymph ve erginlerin toplanarak inkübatöre konulması sonucu, doyup düştükten sonra kulak torbası içerisinde uzun süre (5- 6 saatten daha fazla) kalmaları sonucu oluşan ve büyük oranda bacaklarının kopması-na bağlı ölümlerin önüne de geçilmiştir.

Aç larva, nymph ve erginlerin düşük dereceli inkübatörde canlı ve aktif kalma süreleri, Sayın ve arkadaşlarının (3) laboratuvarda saptamış olduğu 3 *Hyalomma* türünün aç safhalarının canlı ve aktif kalma süreleri ile uyumlu bulunmuştur.

Diğer yandan *Hyalomma* soyunda yer alan bazı diğer kene türlerinin biyolojik gelişmeleri üzerine daha çok deneysel çalışma ve detaylı bilgiler bulunmakla birlikte (3-5) *H. marginatum* ve bunun

alt türü kabul edilen (son dönemlerde ayrı tür olarak değerlendirilen) diğer varyeteleri üzerine yapılan çalışmalar çok kısıtlıdır. Kanight ve ark (6) *H. marginatum rufipes*'in yaşam siklusunu laboratuvarda incelemişler ve 2 konaklı davranış gösteren bu türün gelişme dönemlerinin beslenme süreleri ile ilgili bazı bilgiler vermişlerdir. Aynı türle ilgili olarak Magano ve ark. (7) tarafından yapılan deneysel başka bir çalışmada ise bu türün tavşanlarda 2, kobay ve 2 farklı tür tarla faresinde beslenmeleri durumunda 3 konaklı davranış gösterdiği saptanmış ve doyup düşme oranları üzerine bazı değerler verilmiştir. Bunun dışında bu kene türü veya alt türlerinin biyolojik özellikleri hakkında bazı klasik kitaplarda verilen genel bilgiler dışında yeterli ve detaylı bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada ise *H. marginatum*'un bazı biyolojik özellikleri laboratuvarda incelenerek önemli bilgiler elde edilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen bu verilerin daha sonra yapılacak bilimsel çalışmalara ışık tutacağı ve yararlı olacağı düşünülmüştür.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Karaer Z, Yukarı BA, Aydın L. 'Türkiye Keneleri ve Vektörlükleri', Parazitolojide Artropod Hastalıkları ve Vektörler, (Editörler: M.Ali Özcel, N.Daldal), Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın 1993; No: 13, İzmir.
2. Hoogstral H. African Ixodoidea. I Ticks of the Sudan. U.S. Naval Medical Research Unit cario: Aegypt 1956; 3: 1101.
3. Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, İnci A, Yukarı BA, ve ark. Ankara Yöresinden Elde edilen *Theileria annulata* (Dschunkowsky ve Luhs, 1904) İzolatları Üzerinde Araştırmalar. 3. Laboratuvarda Steril Kene Türlerinin Yetiştirilmesi ve Muhafazası. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1998; 45: 193-9.
4. Walker AR, Fletcher JD, McKellar SB, Bell LJ, Brown CG. The maintenance and survival of *Theileria annulata* in colonies of *Hyalomma anatolicum anatolicum*. Ann Trop Med Parasitol 1985; 79: 199-209.
5. Yukarı BA. Laboratuvarda *Hyalomma anatolicum excavatum* (Koch, 1844) Kolonisinin elde edilmesi ve muhafazası. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1993; 40: 99-114.
6. Kanight MM, Norval RA, Rechav Y. The life cycle of the tick *Hyalomma marginatum rufipes* Koch (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. J Parasitol 1978; 64: 143-6.
7. Magano SR, Els DA, Chown SL. Feeding patterns of immature stages of *Hyalomma truncatum* and *Hyalomma marginatum rufipes* on different hosts. Exp Appl Acarol 2000; 24: 301-13. [CrossRef]