



Kuşadası, Aydın'da Doğadan Yakalanan Kum Sineklerinde (*Phlebotomus tobbi*) Saptanan Entomopatojen Nematod [EPN] ve Biyolojik Kontrol Ajanı Olarak Kullanımının Değerlendirilmesi

Detection of Entomopathogen Nematode [EPN - Sand Flies (*Phlebotomus tobbi*)] Caught in the Wild in Aydın, Kuşadası Town and its Assessment as a Biological Control Agent

Mehmet Karakuş¹, Suha K. Arserim¹, Seray Özensoy Töz², Yusuf Özbel²

¹Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

ÖZET

Amaç: Araştırmada, kum sineklerinin direkt yöntem ile parazit ve diğer organizmaların varlığı yönünden incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Aydın ili Kuşadası ilçesinde doğadan toplanan kum sineklerinde mide diseksiyonu yapılmış ve mide içerikleri ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Diseksiyon sonrasında baş ve genital yapıların bulunduğu abdomenin son iki segmenti şeffaflaştırılarak kalıcı preparat haline getirilen kum sineği örneklerinin tür tayinleri yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmada toplam 1027 kum sineği diseke edilmiştir. Kum sineklerinin identifikasyonu ile 8 *Phlebotomus*, 2 *Sergentomyia* cinsine ait örnekler saptanmış, *Phlebotomus tobbi*'nin %61.34 ile dominant tür olduğu belirlenmiştir. Diseksiyon sırasında bir *P. tobbi* örneğinin hemosölünde *Steinernematidae* familyasına ait 3. evre enfektif juvenil entomopatojen nematod tespit edilmiştir.

Sonuç: Araştırma sırasında saptanan bu bulgu, ülkemizde kum sineklerinde bildirilen ilk entomopatojen nematod bulgusudur. Çalışmada, leishmaniasis açısından endemik bir alan olan Kuşadası'nda kum sineği faunası da belirlenmiş ve bunların kontrolünde çevreye zararları tam olarak bilinmeyen insektisitler yerine hedef dışı hiçbir organizmaya zarar vermeyen entomopatojen nematodların kullanılabilmesi kanısına varılmıştır. (*Türkiye Parazitol Derg* 2013; 37: 36-9)

Anahtar Sözcükler: Kum sinekleri, *Phlebotomus tobbi*, Entomopatojen nematod, Kuşadası, Türkiye

Geliş Tarihi: 22.01.2013 **Kabul Tarihi:** 25.01.2013

ABSTRACT

Objective: In this study, the midgut of the sand flies investigated with direct method for the presence of parasites and other organisms.

Methods: Wild sand flies collected in Kuşadası Town-Aydın, were dissected and midgut contents were examined by light microscopy. After midgut dissection, the head and genitalia of sand fly specimens were clarified and mounted for species identification.

Result: During the study, a total of 1027 sand flies were dissected. Eight and two species belonging to *Phlebotomus* and *Sergentomyia* genera were determined, respectively. *Phlebotomus tobbi* was found to be most abundant species (61.34%). A third stage of infective Entomopathogen Nematode belonging to Steinernematidae family was observed in the hemocoel of one specimen of *P. tobbi* during the dissection process.

Conclusion: This is the first finding related to entomopathogen nematodes found in sand flies in Turkey. In the study, the sand fly fauna was determined in Kuşadası Town. For the control of sand flies, entomopathogenic nematodes which are not harmful for non-target organisms, can be used instead of chemical insecticides that can cause unknown damage in the environment. (*Türkiye Parazitol Derg* 2013; 37: 36-9)

Key Words: Sand fly, *Phlebotomus tobbi*, Entomopathogen Nematode, Kuşadası, Turkey

Received: 22.01.2013 **Accepted:** 25.01.2013

GİRİŞ

Phlebotomine kum sinekleri (Diptera: Psychodidae), leishmaniasise neden olan *Leishmania* cinsi protozoon parazitler, tatarlık hummasına neden olan Filavivirus cinsinden çeşitli virüsler ve bartonellosise neden olan *Bartonella bacilliformis* gibi mikroorganizmalara biyolojik vektörlük yapmalarından dolayı halk sağlığı açısından önemli bir yere sahiptirler (1).

Halk sağlığı açısından zararlı olan artropodlar ile savaşımında kimyasal yöntemlerin yanı sıra çeşitli biyolojik ajanlar da kullanılmaktadır. Bu ajanlar, konağını öldürebilen virüsler, bazı protozoonlar, akarlar, bakteriler, mantarlar ve nematodlar olabilmektedir (2). Çok sayıda nematod türü doğada çeşitli artropodlarla ilişki içindedir. Bu ilişki forezisten parazitizme kadar değişik şekillerde olabilmektedir. Entomopatojen nematodlar hayvanlar aleminin Nematoda şubesinin Rhabditida takımının *Steinernematidae* ve *Heterorhabditidae* familyalarına bağlı 0.2-10 mm uzunluğunda, 20-100 mikron genişliğinde iplik şeklinde, şeffaf, Türkçe'de "iplik solucanları" adı verilen canlı grubundandır (3). Artropodlarla ilişki içerisinde bulunan 3.000'in üzerinde entomofilik (böcekçil) nematod türü olduğu bilinmektedir (4, 5).

Artropod-nematod ilişkisi bakımından en büyük çeşitlilik *Secernentea* sınıfında, *Rhabditida*, *Tylenchida*, *Aphelenchida*, *Oxyurida*, *Spirurida*, *Strongylida*, *Rhigonematida* ve *Ascarida* takımlarında görülmektedir (6). Bu entomopatojen nematodların aynı zamanda mutualistik ilişki içinde oldukları bakterilerin aktivitelerini arttırmak suretiyle de böcek konaklarını 48 saat içerisinde öldürme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir. Bu özellikleri de entomopatojen nematodları biyolojik kontrolde kullanılabilecek uygun bir ajan haline getirmektedir (7, 8).

Bu çalışma, leishmaniasis için endemik bir bölge olan Aydın, Kuşadası'nda vektör kum sineklerinde direkt yöntem ile parazit ve diğer organizmaların varlığı yönünden incelenmesi sırasında hemosölede gözlenen entomopatojen nematod üzerine hazırlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda, Kuşadası'nda çeşitli lokalitelerden CDC ışıklı tuzaklar yardımıyla canlı kum sinekleri toplanmıştır. Kum sinekleri sabah erken saatlerde tuzaklardan alınarak toplandıkları lokalitelere göre ayrı kaplara konulmuş, dişi kum sinekleri stereo mikroskop altında mide diseksiyonu için ayrılmıştır. Toplanan erkek kum sinekleri ise doğrudan diseke edilerek preparat haline getirilmiştir.

Mide Diseksiyonu: Canlı kum sinekleri buz üzerinde bayıldıktan sonra steril %0.9'luk NaCl, antibiyotik (%1.5'lik Penisilin potasyum ve Streptomisin sülfat) ve antimikotik (%1.5'lik Flukonazol) içeren solüsyon içerisine alınmıştır. Herhangi bir kontaminasyon riskini ortadan kaldırmak için diseksiyon iğneleri her bir örnek sonrasında ateş yardımıyla dezenfekte edilmiştir. Kum sineklerinin baş ve genital bölgeleri tür identifikasyonu amacıyla preparat yapmak için ayrılmış, mide ve malpighi tüplerini içeren kısım ise ayrı bir steril damla içine alınarak lamel ile kapatılmış ve olası organizmalar açısından ışık mikroskopunda (x400) kontrol edilmiştir.

Preparat haline getirilen erkek ve dişi kum sineklerinin tür tayinleri, Akdeniz havzası için geçerli olan tür tayin anahtarlarına göre teşhis edilmiştir (9-11).

BULGULAR

Çalışmada toplam 1027 adet dişi kum sineği diseke edilmiş ve tür identifikasyonları yapılmıştır. Buna göre *Phlebotomus* cinsine dahil 8 tür; *P. tobbi* %61, *P. papatasi* %11, *P. neglectus/syriacus* %7, *P. alexandri* %5, *P. brevis* %1, *P. similis* %1, *P. mascitti* %1 ve *P. simici* %1, ve *Sergentomyia* cinsine dahil 2 tür; *S. dentata* %10 ve *S. minuta* %1, tespit edilmiştir (Tablo 1).

P. tobbi olduğu saptanan dişi bir kum sineği hemosölünde canlı halde 1 adet ergin entomopatojen nematod gözlenmiştir. Bunun dışında diseke edilen kum sineklerinin hiçbirinin hemosölünde başka bir nematoda veya yumurtaya rastlanmamıştır. Entomopatojen nematodun kuruması beklenmeden kalıcı preparat haline getirilmiştir. Fakat saha koşullarında çeşitli boyama ve fikse işlemleri yapılamadığı için tür düzeyinde bir identifikasyon gerçekleştirilememiştir. Yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda entomopatojen nematodun, 3. evre enfektif *Steinernematidae* ailesine ait juvenil bir nematod olduğu belirlenmiştir. Uzunluk ölçümleri sonucunda entomopatojen nematodun boyunun ortalama 0.7 mm olduğu saptanmıştır (Şekil 1).

TARTIŞMA

Çalışma alanı olarak belirlenen Kuşadası, zoonotik bir hastalık olan leishmaniasisin insandaki her iki klinik formunun (visseral ve kutanöz) görüldüğü ve köpeklerin rezervuar olarak saptandığı önemli bir endemik alandır (12, 13). Daha önce Kuşadası'nda köpeklerde yapılan çalışmalarda, 253 köpek taranmış ve %16.6 oranında seropozitiflik saptanmıştır (12). Araştırmamız sırasında nematodun tesbit edildiği *Phlebotomus tobbi*, *Leishmania infantum*'un kanıtlanmış vektörüdür (14). Çalışma alanında vektör *P. tobbi*'nin %61 gibi bir dominantlığa sahip olması ve köpeklerde seroprevalansın yüksek olması leishmaniasis açısından riskin boyutlarını ortaya koymaktadır.

Günümüzde kum sinekleri ve diğer tarım zararlıları ile savaşımında kullanılan insektisitlerin çevreye olan olumsuz etkilerinin her geçen gün daha açık bir şekilde ortaya çıkması ve kullanılan insektisitlere karşı vektör artropodların direnç geliştirmesi alternatif mücadele yöntemlerinin araştırılmasını zorunlu hale getirmiştir (3). Ülkemizde yakın zamanda çeşitli bölgelerden toprak örnekleri alınarak doğal entomopatojenler incelenmiştir. Bu

Tablo 1. Diseksiyon yapılan kum sineklerinin türleri ve yüzde dağılımları

Kum Sineği Türleri	Sayısı	%
<i>P. tobbi</i>	630	61.34
<i>P. papatasi</i>	119	11.59
<i>P. neglectus/syriacus</i>	78	7.59
<i>P. alexandri</i>	52	5.06
<i>P. brevis</i>	10	0.97
<i>P. similis</i>	15	1.46
<i>P. simici</i>	3	0.29
<i>P. mascitti</i>	1	0.10
<i>S. dentata</i>	111	10.81
<i>S. minuta</i>	8	0.78



Şekil 1. Kum sineği hemosölünde gözlenen entomopatojen nematod

çalışmalardan en kapsamlısı Hazır ve ark. (8) tarafından yapılmış ve 1080 toprak örneğinden 22 adet pozitif sonuç tespit edilmiştir. Bu çalışmalar sırasında yeni bir *Steinernema* türü tespit edilmiştir. Aydın'da yapılan bir çalışmada da topraktan alınan örnekler incelenmiş ve 28S rRNA, D2D3 ve ITS (internal transcribed spacer) bölgelerinin dizi analizleri ile morfolojik ve morfometrik incelemelerden elde edilen verilere dayanarak Aydın'da *Steinernema* varlığı gösterilmiştir (15). Çalışmada tespit edilen entomopatojen nematodun saha koşullarında uygun preparat teknikleri uygulanmadığı için tür düzeyinde identifikasyonu yapılamamıştır. Yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda *Steinernematidae* familyasına ait olduğu ortaya konmuştur. Araştırma sırasında saptanan bu bulgu, ülkemizde kum sineklerinde bildirilen ilk entomopatojen nematod bulgusudur.

Kum sinekleri ile yapılan bazı çalışmalarda entomopatojen nematodların sadece dişilerde değil aynı zamanda bitki özuları ile beslenen erkek sineklerde de bulunduğu gösterilmiştir (16). Entomopatojen nematodların laboratuvar kolonilerini de tehdit edebildiği, kum sineklerinin larva evresi de dahil olmak üzere her evresinde gözlenebildiği ve bu nedenle bulaşması durumunda deneysel çalışmalarda kullanılan laboratuvar kolonilerinin tamamını çok kısa bir sürede yok edebildiği bildirilmiştir (2). Entomopatojen nematodlar yaşamlarını sürdürebilmek için nemli topraklara ihtiyaç duymaktadırlar. Kum sineği larvalarının da nemli topraklarda bulunmasından, yani aynı ekolojik ortamı paylaşmalarından dolayı, kum sineği larvaları ile savaşımında entomopatojen nematodların etkili olabileceği düşünülmektedir (2).

Entomopatojen nematodların sadece fiziksel olarak değil aynı zamanda mutualistik yaptığı bakteri türleriyle de konağını öldürdüğü çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (7, 8). İnsektisit ve pestisitlerin kullanılmasının yasak olduğu veya gelişen direncin belirlendiği bölgelerde alternatif bir kontrol yöntemi olarak kullanılabilir.

mesi açısından oldukça yararlı organizmalar olduğu, hedef dışı organizmalara hiçbir zararı olmadığı ve uygun toprak şartlarında 6 ay kadar etkinliklerini korudukları belirtilmiştir (17).

SONUÇ

Entomopatojen nematodun leishmaniasis için vektör olan *Phlebotomus tobbi*'de bulunması, nematodun bu türü de enfekte edebileceğini ve bu vektör türle mücadelede kullanılabileceğini göstermektedir. Yine ülkemizde de varlığı saptanmış olan *P. alexandri*, *P. papatasi* ve *P. sergenti* türlerini hedef alarak yapılan bir çalışmada nematod ile enfekte edilen dişi kum sineklerinin kan ememediği, erkek kum sineklerinin de çiftleşme davranışı sergileyemediği gözlenmiştir (18). Bunun yanı sıra, entomopatojen nematodların farklı artropodlarla mücadele etkinliklerinin aynı olmadığı, mücadele edilecek türe göre kullanılacak entomopatojen nematodun değişebileceği belirtilmiştir (19). Bu durum da endemik alanlarda vektör olduğu saptanan kum sineği türleri ile ilgili nematod türlerinin etkileşimi konusunda araştırma yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu çalışma ile *Steinernematidae* türlerinin *P. tobbi*'yi enfekte edebildiği ve biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabileceği belirlenmiştir. Ancak bu alanda sadece ülkemizde değil, leishmaniasisin endemik olduğu birçok ülkede daha kapsamlı araştırmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir. Kum sineklerinin uçmak yerine daha çok zıplama hareketi ile yer değiştirmeleri ve yere yakın hareket etmeleri, larva pupa dönemlerinin toprakta olması entomopatojen nematodlarla temas etme olasılığını artırmaktadır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma, TÜBİTAK 109S448 nolu projenin desteği ile gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Daldal N, Özbel Y. Phlebotomus spp. Vektörlükleri ve kontrolü. Arthropod Hastalıkları ve Vektörler, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, 1997; 13: 49-109.
2. Secundino NF, Araújo MS, Oliveira GH, Massara CL, Carvalho OS, Lanfredi RM, et al. Preliminary description of a new entomoparasitic nematode infecting *Lutzomyia longipalpis* sand fly, the vector of visceral leishmaniasis in the New World. J Invertebr Pathol 2002; 80: 35-40. [CrossRef]
3. Armağan B, Ulu TC, İkizler T. Bursa İli Nilüfer İlçesi Görükle Mevkii Topraklarında Entomopatojen Nematod Sürveyi U.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi 2010; 24: 91-8.
4. Koppenhöfer, AM, Lacey, LA, Kaya, HK. Field manual of techniques in invertebrate pathology. Dordrecht, The Netherlands. Kluwer; 2000.pp.283-301.
5. Giblin-Davis RM, Davies KA, Morris K, Thomas WK. Evolution of Parasitism in Insect-transmitted Plant Nematodes. J Nematol 2003; 35: 133-41.
6. Giblin-Davis RM, Davies K.A, Taylor GS, Thomas, WK. Entomophilic Nematode Models for Studying Biodiversity and Cospeciation. Nematology, Advances and Perspectives. Chen, Z.X., Chen S.Y. and Dickson, D.W., Tsinghua University Press/CABI Publishing. New York., USA. 2003; 492-538.
7. Burnell AM, Stock SP. Heterorhabditis, Steinernema and their bacterial symbionts- lethal pathogens of insects. Nematology 2000; 2: 31-42. [CrossRef]
8. Hazır S. Türkiye'deki Entomopatojenik Nematodlar (*Steinernematidae* ve *Heterorhabditidae*) Üzerine Faunistik Çalışmalar. Doktora Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 2002.

9. Artemiev MM, Neronov VM, Distribution and Ecology of Sandflies of the Old World (Genus *Phlebotomus*), Institute of Evolution, Morphology and Animal Ecology, USSR, Moscow, 1984.p.208.
10. Perfil'ev PP. Phlebotomidae (sandflies), In Fauna of USSR. Second edition; 1968.
11. Killick-Kendrick R, Tang Y, Killick-Kendrick M. The identification of female sandflies of the subgenus *Larrousius* by the morphology of the spermathecal ducts. *Parassitologia*. 1991; 33.
12. Özensoy Töz S, Ertabaklar H, Paşa S, Balcıoğlu IC, Özbek Y. Canine Leishmaniasis In Turkey. Third World Congress on Leishmaniasis. April. Palermo-Terrasini, Sicily, Italy. 2005.p.10-5.
13. Özensoy Töz S, Özbek Y, Ertabaklar H, Yıldızlı N, Korkmaz M, Alkan MZ. Comparisons of clinical findings and serological data in the diagnosis of canine leishmaniasis. *Türk J Vet Anim Sci* 2005; 29: 269-73.
14. Svobodova M, Alten B, Zidkova L, Dvořak V, Hlavackova J, Myškova J, et al. Cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* transmitted by *Phlebotomus tobbi*. *Int J Parasitol* 2009; 39: 251-6. [\[CrossRef\]](#)
15. Aydın MS. Entomopatolojenik Nematodların (*Steinernematidae* ve *Heterorhabditidae*) Aydın İli ve Çevresindeki Topraklarda Tür Çeşitliliği ve Dağılımlarının Belirlenmesi. Doktora Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
16. Kakarsulemankhel JK. Preliminary observations on nematode parasites of phlebotomine sandflies in Pakistan. Communication II. *J Invertebr Pathol* 2003; 84: 63-5. [\[CrossRef\]](#)
17. Entomopatolojen (Böcek Paraziti) Nematodlar ve Tarımsal Mücadele Kullanımları URL: http://ziraat.uludag.edu.tr/ureticiler/ENTOMOPATOJEN_NEMATODLAR.pdf
18. Killick-Kendrick R, Killick-Kendrick M, Qala NA, Ashford RW, Tang Y. Preliminary observations on a tetradonematid nematode of Phlebotomine sandflies of Afghanistan. *Annals Parasit. hum. comp.* 1989; 64: 332-9.
19. Crow WT. Using Nematodes to Control Insects: Overview and Frequently Asked Questions. University of Florida. Extension on Institute of food and Agricultural Sciences, 2002; URL: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN46800.pdf>