

LABORATUVARDA HYALOMMA ANATOLICUM EXCAVATUM (KOCH, 1844)  
KOLONİSİNİN ELDE EDİLMESİ VE MUHAFAZASI<sup>1</sup>

Bayram Ali Yukarı<sup>2</sup>

Research on the establishment and maintenance of a laboratory *Hyalomma anatolicum excavatum* colony.

**Summary:** *The total life cycle of H. a. excavatum ticks under laboratory conditions is 129.5 (80-179) days on two hosts and 136.5 (83-190) days on three hosts.*

*A single female H. a. excavatum engorged 0.47 (0.21-0.87) g of blood from a rabbit and laid 5948 (2313-9367) eggs when placed in an incubator. Larvae hatched from eggs laid during the first 10.5 (6-16) days but not from eggs produced after this period. It was noted that 66.5 % of the larvae hatched.*

*Adult H. a. excavatum ticks obtained without mixing of the eggs from different females, had an anomaly rate of 77.5 % whereas with mixing, the anomaly rate was 74 %. Fifty-nine percent of the engorged nymphs obtained without mixing and 45 % of engorged nymphs obtained with mixing did not moult.*

*The viability and activity of healthy unfed adults and ticks with different degrees of anomalies kept in an incubator (16°C, 90 % relative humidity) were examined for a year. After the first three months, 74 % of the healthy male and 93 % of the healthy female population remained alive and active. However of the unfed adults with anomalies, only 9 % of the male and 24 % of the female population remained alive and active. After this period, unfed healthy tick adults were found to remain alive and active for 10 months in the same incubator, whereas all the ticks with anomalies died. In a low temperature incubator, whereas all the ticks with anomalies died. In a low temperature incubator, healthy unfed larvae and healthy unfed nymphs retained their viability for 5 and 4 months respectively.*

1 Aynı başlıklı doktora tezinin özetidir.

2 Dr. Araş. Gör. A.Ü. Veteriner Fakültesi, Protozooloji ve Entomoloji Bilim Dalı, Ankara.

*In order to obtain engorged nymphs for the colonization of H. a. excavatum ticks in was found that the rabbit was more suitable than the guinea-pig or gerbil for feeding larvae, however the gerbil was found to be more useful than either of the other two hosts for the production of fed larvae (unfed nymphs). Guinea-pigs were not found to be of any use in the production of any life-form of these ticks.*

**Özet:** *Hyalomma a. excavatum'un laboratuvarında toplam hayat siklusu, iki konakta 129.5 (80-179) gün, üç konakta ise 136.5 (83-190) gün devam etmiştir.*

*Bir dişi H. a. excavatum tavşandan 0.47 (0.21-0.37) gr kan emmiştir ve inkübatörde 5048 (2313-9367) yumurta yumurtlamıştır. İlk 10.5 (6-16) günde yumurtlanan yumurtalardan larva çıkmış, daha sonra yumurtlananlardan larva çıkmamıştır. Yumurtalardan larva çıkma oranının % 66.5 olduğu tespit edilmiştir.*

*Hyalomma a. excavatum'un farklı bireylerine ait karıştırılmamış yumurtalardan çıkan larvalardan oluşmuş olgun kenelerde anomali oranı % 77.5, karıştırılmış yumurtalardan çıkan bireylerden meydana gelen olgun kenelerde ise anomali oranı % 74 olmuştur. Karıştırılmamış yumurtalardan üreyen doymuş nimflerin % 59'u, karıştırılmış yumurtalardan meydana gelen doymuş nimflerin ise % 45'i gömlek değiştirmemiştir.*

*Hyalomma a. excavatum'un kolonizasyonunda, doymuş nimf üretmek için larvaların beslenmesinde tavşanların, kobay ve gerbillere göre daha uygun olduğu, ancak doymuş larva ve aç nimf üretmek için gerbillerin diğer iki konak'a göre daha uygun olduğu, kobayların ise üretimde bu türün hiç bir safhası için uygun olmadığı saptanmıştır.*

### Giriş

Türkiye'de ilk defa Oytun (18) tarafından 1947 yılında bildirilen *H. a. excavatum*, daha sonra çeşitli araştırmacılar (7,8,9,13,16,17,24) tarafından Türkiye'nin farklı bölgelerinde tespit edilmiştir.

Bu kene türünün biyolojisi çeşitli araştırmacılar tarafından incelenmiş ve bunların büyük bir kısmı (6,10,15) bu kenenin üç konutlu olduğunu, bir kısım araştırmacı (1,21) ise laboratuvarında *H. a. excavatum'un* iki konutlu özellik gösterdiğini bildirmişlerdir. Diğer bazı araştırmacılar (5,7,11) ise bu kenenin normal olarak üç konutlu olduğunu, ancak bazı hallerde iki konutlu olarak davranabileceğini belirtmişlerdir. Beermann (2), bu kenenin aç larvalarının gerbillerde beslenmesi

kaydıyla üç konutlu, buna karşılık tavşanlarda iki konutlu özellik gösterdiğini saptamıştır. Dumanlı (7), dişi kenelerin doyup düşmesinden sonra, erkeklerin uzun süre konak üzerinde kaldığını ve bunların 130 (80-180) günde doyup konak hayvanları terkettiğini ileri sürmüştür.

Rechav ve Oppenheim (20), bu kenenin doymuş dişilerinin ağırlıklarının 300-1110 mg. arasında olduğunu saptamışlardır. Kumar ve Ruprah (15), laboratuvarında *H. a. excavatum*'un en fazla 4322 adet yumurta yumurtladığını, buna karşılık Becker (1) ise, yumurta sayısının 23-7000 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Laboratuvarında *H. a. excavatum*'un biyolojisi çeşitli araştırmacılar (1,2,5,7,10,11,15) tarafından incelenmiş fakat bu türün gelişme dönemlerinin (larva, nimf ve olgun) sürekli olarak laboratuvarında bulundurulması anlamına gelen kolonizasyonu ile ilgili bir çalışmaya bugüne kadar raslanmamıştır. Ancak bazı araştırmacılar (25, 26) *Hyalomma a. anatolicum*'un kolonizasyonunu ayrıntılı bir şekilde incelemişler ve bu türün kolonizasyonunda uygulanan genel kuralların *Hyalomma* soyuna bağlı diğer türlerde de uygulanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu araştırmacılar Walker ve ark. (25) kolonizasyonun sürekliliği için kenelerin beslenmesinde gerbil, tavşan ve buzağılardan yararlanmışlardır. Aynı araştırmacılar (25), *H. a. anatolicum*'un ideal olarak beslenebilmesi için, tavşanların bir kulağında 200, vücudunda 1000, gerbilin vücudunda 2000, buzağının bir kulağı veya vücudunda 2000 larvanın beslenebileceğini bildirmişlerdir. Keza tavşanın bir kulağında 200, vücudunda 1000, buzağının bir kulağı veya vücudunda 1000 nimfin beslenebileceğini ileri sürmüşlerdir. Olgun keneler için ise, bu sayıları, tavşanın vücudunda 30 dişi ve 60 erkek, buzağının bir kulağı veya vücudunda 20 dişi ve 40 erkek olarak belirtmişlerdir.

Walker ve ark. (25), kenelerin beslenmesinde konak hayvan olarak yetişkin gerbillerin, 3-4 aylık Yeni Zelanda ve Chinchilla ırkı tavşanların, 2 ile 4 aylık Bos taurus ırkı buzağuların kullanılmasını önermişlerdir. Aynı araştırmacılar (25), doyup düşen dişi *H. a. anatolicum* kenelerinin 23-28°C ısı ve % 85 nisbi nem de inkübatörde tutulduklarını, yumurtlamalarını takiben farklı dişilere ait yumurtaların belirli sayılarda karıştırılarak porsiyonlandığını, yumurtadan çıkan larvaların uzun süre muhafazası için 18°C ısı ve % 85 nisbi nem'e ayarlı inkübatörlerin kullanıldığını bildirmişlerdir. Kolonizasyonda doymuş larva ve bunu takiben aç nimf elde etmek amacıyla gerbillerin en uygun konak olduğu bildirilmiştir (25,26). Walker ve ark. (25),

kolonizasyon amacıyla olgunların üretiminde, *H. a. anatolicum*'un iki konutlu davranış göstermesi sebebiyle tavşanların uygun konak olduğunu, aç nimflerin de tavşan ve steril buzağılarda (kene enfestasyonuna maruz kalmamış) beslenebileceğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, *Theileria annulata*'nın vektörü *Hyalomma anatolicum excavatum*'un kolonisinin elde edilmesi, yaşam şartlarının belirlenmesi ve laboratuvarında muhafazası için uygun yöntemin saptanması amaçlanmıştır.

### Materyal ve Metot

*Hyalomma a. excavatum*'un deneysel olarak biyolojisini incelemek ve bunu takiben laboratuvarında bu kenenin kolonisini elde ederek uzun süre muhafaza etmek için gerekli optimal şartları belirlemek amacıyla, 13 adet 4 aylık Yeni Zelanda tavşanı, 4 adet yetişkin kobay ve 2 adet yetişkin gerbil konak hayvan olarak kullanılmıştır.

Kene üretimi için sahadan (İzmir yöresinden) toplanan *H. a. excavatum*'un önce laboratuvara adaptasyonu sağlanmıştır. Bu amaçla laboratuvarında 4 adet doymuş dişi kene yumurtlatıldıktan sonra, yumurtadan yumurtaya olmak üzere iki nesil yetiştirilmiş daha sonra biyolojik özellikleri incelenmiştir. Bunun için konak hayvan olarak tavşanlardan yararlanılmış ve bu kenenin değişik gelişme dönemleri tavşanların kulaklarında beslenmişlerdir.

#### Deney - 1

*Hyalomma a. excavatum*'un biyolojisini incelemek ve larva üretimi amacıyla 1 adet tavşanın her 2 kulağına 20 erkek ve 20 dişi olmak üzere toplam 40 adet aç olgun, diğer bir tavşanın her bir kulağına 250 adet olmak üzere toplam 500 aç larva ve üçüncü bir tavşanın her iki kulağına da toplam 160 adet aç nimf bırakılmış ve daha sonra gelişme dönemleri takip edilmiştir. Ayrıca doymuş dişi kenelerden 8'inin inkübatörde (28°C ısı % 85 N. nem) günlük yumurta verimleri ile bu yumurtalardan larva çıkma oranları izlenmiştir.

#### Deney - 2

*Hyalomma a. excavatum*'un yetiştirilen jenerasyonlarında, akraba yakınlığına bağlı olarak meydana gelen dejenerasyonları tespit etmek amacıyla, yukarıda belirtilen kenelerden doyup düşen 15 dişi kenenin yumurtlamasını takiben 7'sinin yumurtaları, herbirinden bir

miktar alınmak suretiyle, birbirleriyle karıştırılmıştır. Geri kalan 8'inin yumurtaları ise birbirleriyle karıştırılmadan inkübasyona terk edilmiştir. Daha sonra her iki gruba ait yumurtalardan çıkan larvalar, her bir tavşana 500 adet olmak üzere, ikiye tavşanda beslenerek takipeden gelişme dönemleri incelenmiştir.

Kenelerin beslenmesi, tavşanların kulağına takılmış kaput bezinden yapılan kulak torbalarının içine, kenelerin konulmasıyla gerçekleştirilmiştir. Doyup düşen farklı gelişme dönemlerindeki keneler, mantar üremesini engellemek amacıyla, içinde 1/10.000'lik mertiolet damlatılmış kurutma kağıdı bulunan, steril şişelere alınmıştır. Her şişeye yaklaşık 300 doymuş larva, 50 doymuş nimf ve birer adet doymuş dişi kene konulduktan sonra şişelerin ağızları pamukla kapatılmıştır. Daha sonra yumurtlayacak dişi keneler ile gömlek değiştirecek doymuş larva ve nimfler, 28°C ısı ve % 85 nisbi neme ayarlı inkübatöre konulmuşlardır. Aç larva, aç nimf ve aç olgun safhasındaki keneler ise, 16°C ısı ve % 90 nisbi nem'e ayarlı inkübatöre alınmışlardır.

Laboratuvarda *H. a. excavatum*'un (özellikle larvalarının) beslenmesinde tavşanlar dışında 4 adet yetişkin kobay da kullanılmıştır. Kobaylar tek tek tel kafeslerde tutulmuşlardır. Ayrı ayrı kobaylar üzerine aktif haldeki larva, nimf ve olgun keneler beslenmeleri amacıyla dökülmüştür. Daha sonra kafeslerle birlikte kobaylar büyük bir plastik torbaya alınmışlardır. Konak hayvanın ve kenelerin hava alması için, plastik torbanın kafesin üst yüzeyini kaplayan kısmı kesilerek çıkarılmış, yerine flasterle kaput bezi yapıştırılmıştır. Plastik torbanın ağız flasterle sıkıca kapatılmıştır.

Laboratuvarda *H. a. excavatum*'un larvalarının beslenmesinde 2 adet yetişkin gerbil de kullanılmıştır. Gerbiller ayrı ayrı büyük bir beherglas (13.5x19 cm) içine konmuş ve sonra gerbilleri taşıyan beherler, içerisinde su bulunan küvete (4x10x15 cm) yerleştirilmişlerdir. Larva beslemek amacıyla her gerbil üzerine yaklaşık 1000 aç larva dökülmüştür.

Larva üretimi için, bir tavşanın her iki kulağına 20 erkek ve 20 dişi aktif aç olgun *H. a. excavatum* konularak gelişmeleri izlenmiştir. Aynı amaçla bir adet kobayın vücuduna 10 erkek ve 10 dişi kene konmuştur.

Nimf üretimi için, *H. a. excavatum*'un larvaları tavşan, kobay ve gerbillere (beslenmeleri amacıyla) konulmuştur. Bunun için larvalar iki tavşanın kulaklarında (her kulağa yaklaşık 500 larva konmak

suretiyle) beslenmişlerdir. Bu larvaların doyup düşmesi günlük olarak izlenmiş ve doyup düşen larvalar, gömlek değiştirmeleri için inkübatöre (28°C ısı ve % 85 N. nem) alınmışlardır. Doydukları halde konak'ı terketmeyen larvalar, uygun bir pens yardımıyla konak'tan dikkatlice alınmış, gömlek değiştirmeleri için şişelerin içinde aynı inkübatöre konulmuşlardır. Aynı amaçla bu kenenin larvalarından bir kısmı iki yetişkin kobayın vücuduna dökülmüştür. Yine aynı amaca yönelik olarak yaklaşık 2000 kadar larva 2 yetişkin gerbilin vücuduna dökülerek beslenmeleri izlenmiştir.

*Hyalomma a. excavatum*'un olgunlarını elde etmek amacıyla, aç larvalar tavşanların kulaklarına konduktan sonra, doydukları halde konak'ı terketmeyenlerden bir kısmı uygun bir pens yardımıyla toplanmıştır. Bundan sonra konak üzerinde kalanların doymuş nimf olarak konak hayvanı terketmeleri beklenmiş, sonra doyup düşen bu nimfler şişelere alınarak aç olgun elde etmek amacıyla gömlek değiştirmeleri için inkübatöre (28°C ısı ve % 85 N. nem) konmuşlardır.

Kobaylarda *H. a. excavatum*'un aç nimfleri, beslenmek ve olgunlarını elde etmek amacıyla, 1 kobayın vücuduna konmuş ve bunlardan olgun keneler elde edilmeye çalışılmıştır.

Elde edilen koloniyi uzun süre muhafaza etmek ve *H. a. excavatum*'un aç haldeki larva, nimf ve olgularının düşük ısıda yaşam süreçlerini belirlemek amacıyla 16° C ısı ve % 90 nisbi nem'e ayarlanan inkübatör kullanılmıştır. Burada çeşitli gelişme dönemindeki keneler, cam fanus içinde tutulmuşlar ve zaman zaman havalandırılmışlardır.

## Bulgular

### *Hyalomma a. excavatum*'un Biyolejisi ile İlgili Bulgular

Materyal ve metot bölümünde belirtildiği gibi, bir tavşanın her iki kulağına konmuş olan toplam 40 olgun (20 erkek ve 20 dişi) *H. a. excavatum*'dan 15 dişi (% 75), ortalama 17 (9-25) günde, doyarak tavşanı terketmişlerdir. Kan emmeye devam eden 17 (% 85) adet erkek kene ise kendiliğinden tavşanı terketmemiş, 25'inci günde el ile koparılmak suretiyle kulaktan alınmışlardır. Geriye kalan 3 erkek (% 15) ve 5 dişi (% 25) kene kan emmeyip ölmüşlerdir. Gerek inkübatörde (28°C ısı ve % 85 N. nem), gerekse tavşanda *H. a. excavatum*'un gelişmesine ait bulgular Tablo-1 de gösterilmiştir. Bu tablodan da anlaşılacağı gibi, tavşanlarda aynı zamanda beslenmeye başlayan

Tablo 1. *Hyalomma a. excavatum*'un larva, nimf ve olgunlarının tavşanlarda gelişme süreleri

Parametreler	Süreler (gün)
Aç olgun dişilerin beslenme süresi	17 ( 9-25)
Doymuş dişilerin yumurtlama öncesi süresi	14 ( 2-26)
Doymuş dişilerin yumurtlama süresi	17 (10-24)
Yumurtalardan larva çıkma süresi	31 (24-38)
Larvaların aktivite kazanma süresi	7 ( 5-9)
Larvaların doyma süresi	5 ( 3-7)
Doymuş larvaların gömlek değiştirme süresi	7 ( 3-11)
Aç nimflerin aktivite kazanma süresi	3.5 ( 2-5)
Aç nimflerin doyma süresi	7 ( 5-9)
Larvaların doymuş nimf oluncaya kadar beslenme süresi	15.5 (10-21)
Doymuş nimflerin gömlek değiştirme süresi	22 (16-28)
Aç olgunların aktivite kazanma süresi	6 ( 4-8)

*H. a. excavatum* larvalarından bir kısmı iki, bir kısmı ise üç kenetli davranış göstererek gelişmelerini sürdürmüşlerdir.

*Hyalomma a. excavatum*'un iki konakda geliştiği hayat siklusunun, ortalama 129.5 (80-179) gün, üç konakda geliştiği zaman 136.5 (83-190) gün olduğu görülmüştür.

Yumurta verimini ve bunun beslenmeyle ilişkisini belirlemek için inkübatöre (28°C ısı ve % 85 N. nem) konan 8 doymuş dişi *H. a. excavatum*'un günlük yumurta verimi Tablo 2 de, bu yumurtalardan çıkan larvaların nisbeti Şekil 1'de, yumurta verimi ve yumurtalardan larva çıkma oranının emilen kan miktarı ile ilişkisi Tablo 3'de gösterilmiştir.

Bunların yanında *H. a. excavatum*'un aç olgun erkek ve dişileriyle yumurta, larva ve nimflerinin saptanan ağırlıkları aşağıda belirtilmiştir. Buna göre 100 adet aç olgun erkek 0.55 gr, 100 adet aç olgun dişi 0.75 gr olarak bulunmuştur. Dişilerin ortalama doyup düşme süresi olan 17 gün boyunca kan emmiş fakat konak'ı terketmemiş erkek kenelerin ortalama ağırlığının sadece 0.2 mg arttığı tespit edilmiştir. Halbuki 17 gün sonunda dişi kenenin ağırlığı ortalama 0.47 gr artmıştır. Dişilerdeki ağırlık artışı, erkeklerdeki ağırlık artışının 2350 katıdır. *Hyalomma a. excavatum*'a ait 1000 adet yumurta 0.077 gr, 100 adet doymuş larva 0.056 gr, 100 adet doymuş nimf 1.625 gr olarak saptanmıştır.

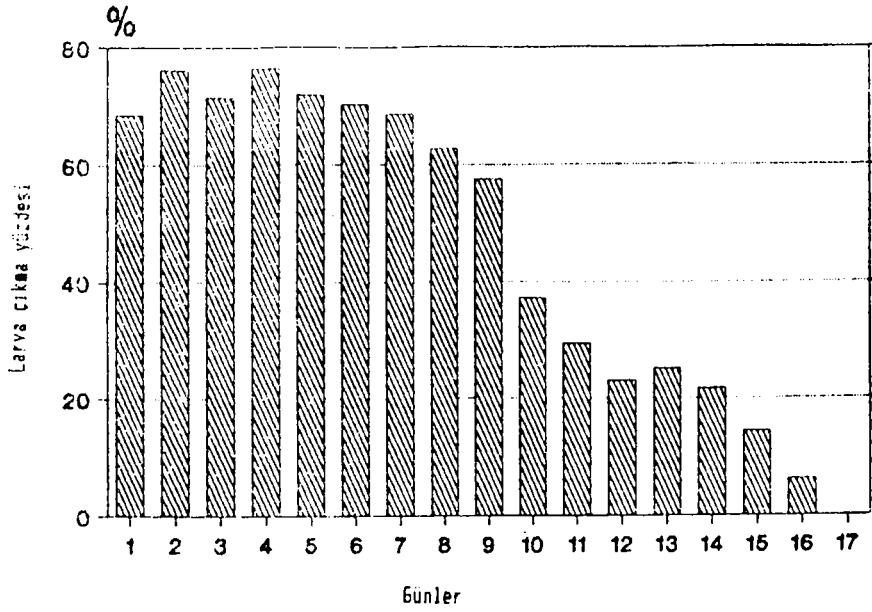
Farklı dişilere ait karıştırılmış ve karıştırılmamış uyumurtalardan çıkan 2'inci kuşak larvalardan elde edilen olgun *H. a. excavatum* ile ilgili bulgular Tablo 4 ve 5 'te verilmiştir.

Tablo 2. Doymuş dişi *H. a. excruciatum*'un değişik günlerdeki yumurta veriminin sayısal durumları

Dişi kene sayısı	Dişi kenelerin yumurta bıraktıkları günler ve yumurta sayıları*																							Toplam	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23		
1	293	857	866	825	1075	994	789	742	821	662	449	308	241	162	117	60	51	30	23	2					9367
1	474	1056	872	714	1143	1033	885	519	194	410	236	160	132	126	63	56	70	44	16	32	11	7	6		8259
1	947	734	1055	774	930	974	690	497	496	305	179	99	50	39	44	20	9	9							7851
1	415	455	426	415	428	377	260	241	179	128	67	60	44	36	19	20	14	14	5	7					3610
1	334	621	560	674	444	339	322	220	150	108	159	76	69	38	39	31	16	22							4222
1	124	546	239	392	302	249	120	94	75	78	49	32	27	15	7	9	4	10	6						2378
1	300	392	437	286	285	240	122	85	98	51	16	14	24	6	5	17	6								2384
1	394	446	505	319	145	186	104	62	40	43	22	13	7	8	3	4	3	3							2313
Ortalama	410	638	620	550	594	549	411	308	256	223	147	95	74	54	37	27	21	17	6	5	1	1	1		5048

\* 28°C ısı ve % 85 nisbi nemdeki inkübatörde



Şekil 1. *Hyalomma a. excavatum*'un yumurtalarından larva çıkma oranlarıTablo 3. *Hyalomma a. excavatum* doymuş dişilerinin kan emme miktarları ile yumurtlama ve yumurtalardan larva çıkma oranları arasındaki ilişki

Dişi kene sayısı	Doymuş dişinin ağırlığı (gr)	Toplam yumurta sayısı	Yumurtalardan larva çıkma süresi (gün)	Yumurtalardan larva çıkma oranı (%)
1	0.88	9367	10	62
1	0.80	8259	14	82
1	0.64	7851	9	58
1	0.50	3510	13	69
1	0.38	4222	16	75
1	0.25	2378	8	64
1	0.22	2384	8	70
1	0.21	2313	6	52
Ortalama	0.43	5943	10.5	66.5

Ortalama 28°C ısı ve % 85 nıbi neindeki inkübatöre

Ayrıca düşük dereceli inkübatöre (16°C ısı ve % 90 N. nem) konan her iki gruba ait (anomalili ve anomalisiz) aç olgun kenelerden anomalisiz erkeklerin % 74'ünün, dişilerin % 93'ünün 3 ay süreyle canlı ve aktif oldukları tespit edilmiştir. Buna karşılık bu süre zarfında anomalili aç olgunların erkeklerinin ancak % 9'unun, dişilerinin % 24'ünün canlı ve aktif oldukları, geriye kalanların öldükleri anlaşılmıştır.

Tablo 4. *Hyalomma a. excavatum*'un farklı dişilerine ait karıştırılmamış yumurtalarından elde edilen aç olgun kenelerde anomali durumları.

Tavşan sayısı	Konulan aç nimf sayısı	Doyp düşen nimf sayısı	Gömlek değiştirmeyen doymuş nimf sayısı	Gömlek değiştiren doymuş nimf sayısı	Anomali görülmeyen aç olgun kene sa.		Anomali görülen aç olgun kene sa.	
					E	D	E	D
1	500	110	69	41 (17 E, 24 D)	10	4	7	20
1	500	183	103	80 (42 E, 38 D)	7	6	35	32
Toplam	1000	293	172	121 (59 E, 62 D)	17	10	42	52
%		29	59	41	29	16	71	84

E: Erkek D: Dişi

Tablo 5. *Hyalomma a. excavatum*'un farklı dişilerine ait karıştırılmış yumurtalarından elde edilen aç olgun kenelerde anomali durumları.

Tavşan sayısı	Konulan aç nimf sayısı	Doyp düşen nimf sayısı	Gömlek değiştirmeyen doymuş nimf sayısı	Gömlek değiştiren doymuş nimf sayısı	Anomali görülmeyen aç olgun kene sayısı		Anomali görülen aç olgun kene sayısı	
					E	D	E	D
1	500	160	99	61 (24 E, 37 D)	7	3	17	34
1	500	147	40	107 (50 E, 57 D)	18	14	32	43
Toplam	1000	307	139	168 (74 E, 94 D)	25	17	49	77
%		31	45	55	34	18	66	82

E: Erkek D: Dişi

### *Hyalomma a. excavatum*'un Kolonizasyonu ile İlgili Bulgular

Larva üretimi için bir tavşanın her iki kulağına konan aç olgun *H. a. excavatum*'dan doyararak konak'ı terkeden dişi kenelerden 8'i inkübatöre konmuştur. Bu kenelerden, kene başına, ortalama 5048 adet yumurta ve bu yumurtalardan da ortalama 3357 adet aç larva elde edilmiştir.

Nimf üretimi için karıştırılmış 3'üncü jenerasyon yumurtalardan çıkıp iki tavşanın kulaklarına konmuş 1000'er adet aç larvadaki sırasıyla 380 (% 38) ve 312 (% 31) tanesi doyp kendiliğinden tavşanları terketmiştir. Düşmeyen larvalar, aç nimf elde etmek amacıyla 5'inci günde özel bir pensle dikkatlice çekilerek tavşanların birinden toplanmıştır. Gerek kendiliğinden düşen ve gerekse pensle toplanan doymuş larvaların tamamına yakını inkübatörde ortalama 7 (3-11) günde gömlek değiştirerek aç nimf olmuşlar ve ortalama 3.5 (2-5) günde aktivite kazanmışlardır. Aynı amaçla gerbiller üzerinde beslenen

*H. a. excavatum*'un larvalarının doyarak 4'üncü günde gerbili terketmeye başladıkları, 10'uncu günde tamamen terkettikleri görülmüştür. Bu larvalar inkübatörde 5'inci günde gömlek değiştirmeye başlamışlar, 12'inci güne kadar (birkaçı hariç) tamamen gömlek değiştirerek aktivite kazanmışlardır.

Olgun kene üretimi için *H. a. excavatum*'un tavşanlarda iki konutlu davranış göstermesinden yararlanılmıştır. Burada tavşanlara konan larvalar doyduktan sonra 6'ıncı günden itibaren tavşan üzerinde gömlek değiştirerek aç nimf olmuşlar, sonra ortalama 15.5 (10-21) günde kanla beslenip doymuş nimf olarak konak'ı terketmişlerdir. Nimf üretmek amacıyla bir tavşan'ın her iki kulağına konulan 1000 aç larvadan 474 (% 47.4)'ü konak'ı doymuş nimf olarak terketmiş ve inkübatörde ortalama 22 (16-28) günde, 132 (% 44.4) erkek ve 165 (% 55.6) dişi (toplam 297) aç olgun *H. a. excavatum* elde edilmiştir. Bu keneler ortalama 6 (4-8) günde aktivite kazanmışlardır.

Bu arada larva, nimf ve olgun üretimi amacıyla kobaylara konan *H. a. excavatum*'un aç olgun, larva ve nimfleri konak'a tutunmayıp bir süre sonra ölmüşlerdir.

Diğer taraftan elde edilen *H. a. excavatum* kolonisinin düşük dereceli inkübatörde (16°C ısı ve % 90 N. nem) muhafazası esnasında; aç larvaların 5 ay, aç nimflerin 4 ay, aç olgunların da 10 ay kadar canlı ve aktif kaldıkları, daha sonra aktivitelerinin azaldığı ve 1-2 ay içinde tamamının öldüğü belirlenmiştir.

### Tartışma ve Sonuç

*Hyalomma a. excavatum*'un biyolojisi çeşitli araştırmacılar (1-6,10, 11,15,21), tarafından incelenmiştir. Bazı araştırmacılar (6,10,15) bu kenenin üç konutlu davranış gösterdiğini bildirmesine karşılık, Becker (1) ve Schüler (21), laboratuvarında *H. a. excavatum*'un iki konutlu özelliğe sahip olduğunu saptamışlardır. Daubney ve Said (5), bu türün sığırlarda üç, Dumanlı (7), koyun ve danalarda üç, tavşanlarda iki konutlu davrandığını bildirmişlerdir. Schüler (21), laboratuvarında bu kenenin sığır ve tavşanlarda iki konutlu davranış gösterdiğini saptamıştır. Beermann (2), aç larvaların gerbillerde beslenmesi kaydıyla üç, tavşanlarda beslendiği takdirde iki konutlu özelliğe sahip olduğunu ileri sürmüştür. Bu araştırmayla *H. a. excavatum*'un, bazı araştırmacıların (2,7,11) bildirdiği gibi, beslendiği konak hayvana göre farklı gelişme özelliği gösterdiği ortaya konmuştur. Tavşanlarda bir kısmı

üç, büyük çoğunluğu iki konutlu davranış göstermiştir. Beermann (2)'ın bulgularına uygun olarak larvaları, gerbillerde beslendiği zaman tamamen üç konutlu davranış göstermişlerdir. Honzakova (11)'nin bulgularının aksine kobaylarda bu kenenin larvaları beslenmemiştir.

*Hyalomma a. excavatum*'un larva, nimf ve olgunlarının beslenme, gömlek değiştirme, olgun dişinin yumurtlama, yumurtalardan larva çıkma süreleri bir kısım araştırmacı (1,2,7,10,11,14) tarafından incelenmiştir. Bu araştırmacılar Becker (1), *H. a. excavatum*'un dişilerinin yumurtlama öncesi süresinin 5 gün olarak bildirmesine karşılık bu çalışmayla bu sürenin iki güne kadar düşebileceği saptanmıştır. Keza yumurtlama öncesi süresinin mart ayında 73, kasım ayında 126 güne kadar uzayabileceği ileri sürüldüğü halde (2), bu çalışmada aynı süre 26 gün olarak belirlenmiştir. Bu türün yumurtlama süresi de çeşitli araştırmacılar (2, 7,10,11) tarafından farklı olarak bildirilmiştir. Beermann (2), bu süreyi 4-5 gün olarak, Hadani ve ark. (10), 23-35 gün olarak tespit etmişlerdir. Bu araştırmada yumurtlama süresi 10-24 gün olarak saptanmıştır. Dumanlı (7) tarafından en erken 28 gün olarak belirlenmiş olan yumurtadan larva çıkma süresi, bu çalışmada 24 gün olarak bulunmuştur. Yine en geç 52 gün içinde yumurtalardan larvaların çıktığı Honzakova (11) tarafından bildirildiği halde, bu araştırmada yumurtalardan larvaların çıkışının 38 gün sürdüğü belirlenmiştir. Diğer taraftan bu çalışmayla 5-9 gün olarak belirlenen aç larvaların aktivite kazanma süresi, Dumanlı (7) ve Bohrmann(4) tarafından 2-12 gün olarak saptanmıştır. Larvaların beslenme süresi ise, bu araştırmada 3-7 gün olarak bulunmuştur. Bu süre çeşitli araştırmacılar (1,2,4,7,10,11,14) tarafından 2-18 gün olarak bildirilmiştir. Larvadan nimfe doyma süresini Becker (1), 12-19 gün, Beermann (2), 17-28 gün olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmada aynı süre, bu araştırmacıların belirlediği sınırlar (10-21 gün) da bulunmuştur. Doymuş larvaların gömlek değiştirme süresi, Dumanlı (7), tarafından 2-5 gün, Bohrmann (4) tarafından 5-24 gün bulunmuştur. Bu araştırmada aynı sürenin 3-11 gün arasında değiştiği belirlenmiştir. Bazı araştırmacılar (4,12) aç nimflerin aktivite kazanma süresinin 3-9 gün arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmada aktivite kazanma süresi 2-5 gün olarak saptanmıştır. *Hyalomma a. excavatum*'un aç nimflerinin beslenme süresi bu çalışmada 5-9 gün olarak saptanmış ve bu sürenin literatürlerdeki (2,7,10,11,12,14) verilere uygun olduğu görülmüştür. Doymuş nimflerin gömlek değiştirme süresi, bu çalışmada 16-28 gün olarak saptandığı halde, Hoogstraal (12), bu sürenin

11-35 gün, Honzakova (11), 34-38 gün olduğunu bildirmişlerdir. Aç olgunların aktivite kazanma süresi bu çalışmayla 4-8 gün olarak belirlenmiştir. Dişilerin doyma süresini Dumanlı (7), 5-8 gün, Hadani ve ark. (10), 7-18 gün olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada dişilerin beslenme süresi 9-24 gün olarak belirlenmiştir.

*Hyalomma a. excavatum*'un toplam hayat siklusu doğal şartlarda 90-197 gün (3,10,12,14,15), laboratuvar şartlarında 97-298 gün (1,2,7,14) olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada *H. a. excavatum*'un laboratuvarında toplam hayat siklusu iki konutlu halde 80-179 gün, üç konutlu halde 83-190 gün olarak tespit edilmiştir. Dumanlı (7), bu kene türünün laboratuvarında iki, bazen üç nesil verebileceğini, ancak doğada yılda bir nesil verdiğini bildirmiştir. Bu araştırmayla *H. a. excavatum*'un laboratuvarında yılda iki nesil meydana getirdiği tespit edilmiştir. Bu durumda bu çalışmadaki bulgular, Dumanlı'nın (7) bulguları ile uygunluk göstermektedir.

Rechav ve Oppenheim (20), doymuş *H. excavatum* (*H. a. excavatum*) dişilerinin 300 mg ile 1110 mg arasında ağırlığa sahip olduklarını, Dumanlı (7), doymuş dişi ağırlığının 305 mg ile 660 mg arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Snow ve Arthur (23) dişi kenelerin kan emme miktarı ile yumurta sayısının doğru orantılı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu araştırmacılar (23), 127 mg tartılan dişi kenenin 706 adet, 279 mg tartılan dişinin ise 2634 yumurta yumurtladığını saptamışlardır. Bu araştırmayla *H. a. excavatum*'un doymuş dişilerinin ağırlığının 210 mg ile 880 mg arasında değiştiği, 210 mg ağırlığındaki kenenin 2313 adet 880 mg ağırlığındaki kenenin 9367 yumurta yumurtladığı belirlenmiştir. Bu çalışmadaki bulguların Snow ve Arthur (23)'un bulguları ile uygunluk gösterdiği anlaşılmıştır. Becker (1), doğal şartlarda bu kenenin doymuş dişilerinin en az 23, en fazla 7000 yumurta yumurtladıklarını, Kumar ve Rubrah (15), bu sayının laboratuvarında 4322 olduğunu, Dumanlı (7), laboratuvarında bu kenenin dişilerinin en az 2968, en fazla 8267 ve ortalama 5727 yumurta yumurtladığını saptamışlardır. Bu araştırmayla *H. a. excavatum*'un doymuş dişilerinin en az 2313, en fazla 9367, ortalama 5048 yumurta yumurtladığı tespit edilmiştir. Böylece bu araştırmayla bir dişi *H. a. excavatum*'un 9367 yumurta yumurtlayabileceği ilk defa belirlenmiştir.

*Hyalomma a. excavatum*'un kolonizasyonu ile ilgili özellikler bulunmamakla birlikte, bir çok araştırmacı (1,2,4,7,11,15,20), bu türün laboratuvarında yetiştirilmesi konusunda araştırma yapmışlardır. Patrik

ve Hair (19), laboratuvarında *Ixodidae* ailesine bağlı bazı kene türlerinin beslenmesi ve üretim teknikleri konusunda bilgiler vermişlerdir. Bu araştırmacıların yayınlarında belirtilen beslenme ve üretim teknikleri ile ilgili genel kuralların *Hyalomma* soyundaki türlerin beslenme ve üretimine de uygulanabileceği bildirilmiştir (25). Walker ve ark. (25), *H. a. anatolicum*'un kolonizasyonu ile ilgili ayrıntılı bilgi vermişlerdir. Bu araştırmacılar (25) *H. a. anatolicum*'un üzerinde yaptıkları çalışmada beslenmesi gereken kene sayılarının, tavşanların vücudunda 60 erkek, 30 dişi olması gerektiğini bildirmişlerdir. Diğer bir kısım araştırmacı (15, 25, 26), olgun kenelerin beslenmesi esnasında erkek ve dişi sayısının eşit olması gerektiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmada da larva üretimi için olgunların beslenmesi amacıyla tavşanların kulaklarından yararlanılmıştır. Bu amaçla her bir tavşanın kulağına eşit sayıda erkek ve dişi (10 erkek, 10 dişi) *H. a. excavatum* konmuştur. Beslenmeleri için tavşanlara konan dişi kenelerin % 75'inin doyarak konak'ı terkettiği, inkübatörde bir dişinin ortalama 5048 yumurta yumurtladığı, bu yumurtalardan da ortalama % 66.5 oranında larva çıktığı, larvaların düşük dereceli inkübatörde aç halde 5 ay kadar canlı ve aktif olarak kaldığı, 6'ncı aydan sonra bazı larvaların öldüğü, 8'inci aydan sonra canlı larva kalmadığı belirlenmiştir. Walker ve ark. (25), *H. a. anatolicum*'un doymuş larva ve aç nimflerinin üretiminde konak hayvan olarak gerbillerin, doymuş nimf üretiminde ise tavşanların uygun konak olduklarını bildirmişlerdir. Snow (22) *H. a. anatolicum* larvalarının beslenmesinde kobayların da kullanılabileceğini Honzakova (11) *H. a. excavatum*'un olgunlarının kobaylarda beslendiğini bildirmelerine karşılık, bu araştırmada, bu kenenin hiç bir safhasının kobaylarda beslenmediği belirlenmiştir. Ayrıca tavşanların kulaklarında beslenen *H. a. excavatum*'un larvalarının ortalama % 45 oranında, gerbillerde beslenen larvaların ise ortalama % 100 oranında doymuş larva halinde konak'ı terkettiği saptanmıştır. Bu nedenle doymuş larva ve aç nimf elde edilmesinde gerbillerin, tavşanlara göre daha uygun bir konak olduğu sonucuna varılmıştır. Buna karşılık aç larvadan aç olgun elde edilmesi için *H. a. excavatum*'un larvalarının doymuş nimf haline kadar beslenmesinde tavşanların, gerbillere göre, daha uygun konak olduğu tespit edilmiştir.

Walker ve ark. (25)'nin önerileri doğrultusunda *H. a. excavatum*'un kolonizasyonunun sürekliliği için, her yetiştirilen jenerasyonda, düşük dereceli inkübatörde 30.000 aç larva, 10.000 aç nimf ve 1500 aç olgun bulundurulmuştur.

Sonuç olarak bu çalışmada:

1- *Hyalomma a. excavatum*'un laboratuvarda yılda ancak iki nesil verebileceği,

2- Larva ve olgun üretiminde tavşanların, aç nimf üretiminde gerbillerin daha uygun konak olduğu, buna karşılık kobayların ise bu türün bütün gelişme dönemleri için uygun bir konuk olmadığı,

3- Kolonizasyonda sağlıklı kene nesilleri elde etmek için, yine sağlıklı olarak yetiştirilen farklı dişilere ait yumurtaların birbiriyle karıştırılması gerektiği,

4- Kolonizasyonun sürekliliği için, her yetiştirilen jenerasyonda bu türün 30.000 aç larvasının, 10.000 aç nimfinin ve 1500 aç olgununun her zaman düşük dereceli inkübatörde bulundurulması, ayrıca bu inkübatörde (16°C ısı ve % 90 nisbi nem) aç larvaların 5 ay, aç nimflerin 4 ay, aç olgunların ise 10 ay'dan fazla bırakılmaması gerektiği sonucuna varılmıştır.

#### Kaynaklar

1. **Becker, H.** (1972). *Untersuchungen über die Beeinflussung der Lebenszyklen von Rhipicephalus bursa (Canestrini u. Fanzago, 1877), Hyalomma anatolicum excavatum (Koch, 1844) und Boophilus annulatus (Say, 1821) durch unterschiedliche Temperature.* Berlin, Frei Univ. Diss. 33 p.
2. **Beermann, P.** (1987). *Übertragung von Babesia ovis durch Rhipicephalus turanicus und Hyalomma anatolicum excavatum.* Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss. 116 p.
3. **Berdyev, A.** (1974). *On the cycle of development of Hyalomma anatolicum excavatum Koch (parasitiformes, Ixodidae) in Turkmenia.* Med. Parasitol. i Parazitar Bolezni., 43 (1): 33-43.
4. **Bohrmann, R.** (1981). *Laboratoriums- und Felduntersuchungen zur Identität und Biologie der beiden Zecken Hyalomma anatolicum anatolicum (Koch, 1844) und Hyalomma anatolicum excavatum (Koch, 1844).* Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss. 83 p.
5. **Daubney, R., Sami Said, M.** (1951). *Egyptian fever of cattle, the transmission of Theileria annulata (Dzchunkowsky; Lutz, 1904) by Hyalomma anatolicum excavatum (Koch, 1844).* Parasitol., 41: 249-260.
6. **Delpy, L.P.** (1946). *Revision par des voies experimentales du genre Hyalomma C.L., Koch, 1844 (Acarina, Ixodoidea, Ixodidae) Note preliminaire.* Ann. Parasitol., 21 (5-6): 267-293.
7. **Dumanlı, N.** (1983). *Elazığ ve yöresinde Hyalomma excavatum (Koch, 1844)'un biyo-ekolojisi üzerinde araştırmalar.* TÜBİTAK Doğa Bilim Derg., 7 (1): 23-31.
8. **Göksu, K.** (1959). *Ankara ve civarı sığırlarında Theileriosis üzerinde sistemli araştırmalar.* Dok. Tez. A.Ü. Vet. Fak. Yay. 115: 73 s.

9. **Göksu, K.** (1968). Bazı Karadeniz Bölgesi illerini sığırlarında müşahade edilen Babesidae (Sporozoa; Piroplasmida) enfeksiyonları ve kene enfestasyonları. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 15: 46-57.
10. **Hadani, A., Cwillich, R., Rechav, Y.** (1969). Some methods for the breeding of ticks in the laboratory. Refuah. Vet., 26 (3): 87-100.
11. **Honzakova, E.** (1971). Development of some tick species under standard laboratory conditions. Folia Parasitol., 18: 357-363.
12. **Hoogstraal, H.** (1956). African Ixodoidea. I Ticks of the Sudan. U.S. Naval Medical Research Unit Cairo, Egypt. No. 3, pp. 338-534.
13. **Karaer, Z.** (1983). Ankara ili ve civarında bulunan kene türleri ile Hyalomma detritum'un (Schultze, 1919) bazı ekolojik özellikleri üzerinde araştırmalar. TÜBİTAK VII. Bilim Kongresi Tebliğleri, s. 371-378.
14. **Khan, S.I.** (1971). Bursa civarı sığırlarında Theileria annulata'nın vektörleri üzerinde araştırmalar. Dok. Tez. Şenyuva Matbaası, Ankara. 44 s.
15. **Kumar, N., Ruprah, N.S.** (1973). Ecological studies on the tick Hyalomma anatolicum excavatum under laboratory conditions. Haryana Agric. Univ. J. Res., 3 (3): 151-160.
16. **Kurtpınar, H.** (1954). Türkiye Keneleri, Güven Matbaası, Ankara. 95 s.
17. **Merdıvenci, A.** (1963). Türkiye Keneleri Üzerine Araştırmalar. Kutulnas Matbaası, İstanbul. 420 s.
18. **Oytun, H.Ş.** (1947). Keneler, zararları ve savaş çareleri. Y.Z.E. Basımevi, Ankara. 109 s.
19. **Patrick, C.D., Hair, J.A.** (1975). Laboratory rearing procedures and equipment for multi-host ticks. J. Med. Ent., 12 (3): 389-390.
20. **Rechav, Y., Oppenheim, J.** (1969). Feeding and fertilizing capacity in male ticks of the species Hyalomma excavatum (Koch, 1844). Refuah. Vet., 26 (2): 71-74.
21. **Schüler, E.** (1979). Untersuchungen zur Wirtigkeit und zur Überträgerrolle verschiedener beim Rind vorkommender Zecken der Gattung Hyalomma. Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss. 46 p.
22. **Snow, K.R.** (1969). The life - history of Hyalomma anatolicum anatolicum Koch, 1844 (Ixodoidea, Ixodidae) under laboratory conditions. Parasitol., 59: 105-122.
23. **Snow, K.R., Arthur, D.R.** (1966). Oviposition in Hyalomma anatolicum anatolicum (Koch, 1844) (Ixodoidea, Ixodidae). Parasitol., 56: 555-568.
24. **Taççı, S.** (1989). Van bölgesinde sığır ve koyunlarda görülen kene türleri ile bunların taşıdığı kan parazitleri (protozoon) arasındaki ilişkiler. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 36 (1): 53-63.
25. **Walker, R., Fletcher, J.D., McKeller, S.B., Bell, L.J., Brown, C.G.D.** (1985). The maintenance and survival of Theileria annulata in colonies of Hyalomma anatolicum anatolicum. Ann. Trop. Med. Parasitol., 79 (2): 119-209.
26. **Walker, A.R.** (1991). The laboratory colonisation of ticks. Personal communication.