

**T.C  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ORTA KIZILIRMAK HAVZASININ NEVŞEHİR  
BÖLÜMÜNDE SORUN OLUŞTURAN KARASİNEK  
(DİPTERA: SİMULİİDAE) TÜRLERİNİN MOLEKÜLER  
KLASİFİKASYONU**

**Hazırlayan  
Hakan YEŞİLÖZ**

**Danışman  
Doç.Dr.Alpaslan YILDIRIM**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Aralık 2011  
KAYSERİ**

**T.C  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ORTA KIZILIRMAK HAVZASININ NEVŞEHİR  
BÖLÜMÜNDE SORUN OLUŞTURAN KARASİNEK  
(DİPTERA: SİMULİİDAE) TÜRLERİNİN MOLEKÜLER  
KLASİFİKASYONU**

**Hazırlayan  
Hakan YEŞİLÖZ**

**Danışman  
Doç.Dr.Alpaslan YILDIRIM**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-11-  
3437 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Aralık 2011  
KAYSERİ**

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.


Adı-Soyadı: Hakan YEŞİLÖZ

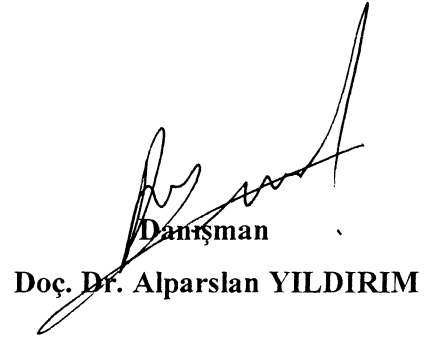
İmza :

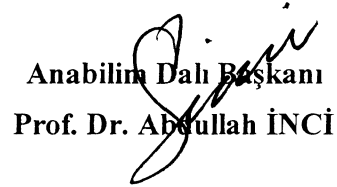


**YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI**

**“Orta Kızılırmak Havzasının Nevşehir Bölümünde Sorun Oluşturan Karasinek (Diptera: Simuliidae) Türlerinin Moleküler Klasifikasyonu”**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

  
Tezi Hazırlayan  
**Hakan YEŞİLÖZ**

  
Danışman  
**Doç. Dr. Alparslan YILDIRIM**

  
Anabilim Dalı Başkanı  
**Prof. Dr. Abdullah İNCİ**



**Doç. Dr. Alparslan YILDIRIM** danışmanlığında **Hakan YEŞİLÖZ** tarafından hazırlanan “**Orta Kızılırmak Havzasının Nevşehir Bölümünde Sorun Oluşturan Karasinek (Diptera: Simuliidae) Türlerinin Moleküler Klasifikasyonu**” konulu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Parazitoloji** Anabilim Dalı’nda **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

27.../12/2011

**JÜRİ :****İmza**

Üye : Prof. Dr. Abdullah İNCİ

Üye : Prof. Dr. Süleyman YAZAR

Üye : Doç. Dr. Alparslan YILDIRIM

**ONAY**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun .....tarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

**Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR**  
**Enstitü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımın her aşamasında beni cesaretlendiren, bilgi, beceri ve tecrübesinden faydalandığım, eleştirileri ve yardımları ile her zaman yol gösterici olan, çalışma disiplini, işine gösterdiği hassasiyet ile örnek aldığım hocam ve tez danışmanım sayın Doç. Dr. Alparslan YILDIRIM başta olmak üzere, saha ve laboratuvar çalışmalarım esnasında her türlü destek ve yardımlarını esirgemeyen Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Abdullah İNCİ ve diğer öğretim elemanları Yrd. Doç. Dr. Önder DÜZLÜ, Öğretim Görevlisi Zuhâl BİŞKİN ve Araştırma Görevlisi Arif ÇİLOĞLU'na, saha çalışmalarında yardımcı olan Ziraat Yüksek Mühendisi Abdullah YILMAZ ve Veteriner Hekim Ahmet DEMİRCİOĞLU'na, çalışmalarımın desteklerini esirgemeyen Şube Müdürüm Rukiye PINAR' a ve son olarakta Eşim Ümmühan YEŞİLÖZ ve Annem Leyla YEŞİLÖZ' e desteklerinden dolayı, çalışma süresince malzeme bazında 1110426 ve TSY-11-3437 kodlu projelerle destek sağlayan TÜBİTAK' a ve Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

**ORTA KIZILIRMAK HAVZASININ NEVŞEHİR BÖLÜMÜNDE SORUN  
OLUŞTURAN KARASİNEK (DİPTERA: SİMULİİDAE) TÜRLERİNİN  
MOLEKÜLER KLASİFİKASYONU**

**T.C. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi, Aralık 2011  
Danışman: Doç. Dr. Alparslan YILDIRIM**

**ÖZET**

Bu çalışma, Kızılırmak nehrinin Nevşehir'in Ürgüp ve Gülşehir ilçelerinden geçen bölümünde, sorun oluşturan simuliid türlerinin moleküler karakterizasyonunun yapılması amacıyla planlanmıştır. Bu amaçla Mayıs-Eylül 2011 tarihleri arasında biri Ürgüp diğer ikisi ise Gülşehir ilçeleri olmak üzere toplam üç toplama istasyonundan 150 adet simuliid larva örnekleme yapılmıştır. Toplanan larvaların önce morfolojik incelemeleri yapılmış daha sonra moleküler analize geçilmiştir. Örnekleme bölgelerinden seçilmiş toplam 7 larvadan genomik DNA ekstraksiyonunu yapılmış ve elde edilen DNA'lar parsiyel mitokondriyal cytochrome oxidase subunit 1 ve ribosomal complete internal transcript spacer 2 ve parsiyel 28S gen bölgelerini amplifiye eden spesifik primerler ile PCR'a tabii tutulmuştur. Elde edilen ampikonların söz konusu gen bölgeleri yönünden filogenetik analizi için aynı primerler ile sekans analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen izolatların GenBank kayıtları yapılmış ve dünyadaki benzer izolatlar ile Multiple alignmentları yapılarak filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir. Morfolojik incelemesi yapılan 150 larvanın *Simulium* sp. genel özelliklerini gösterdiği belirlenmiştir. Mt-COI gen bölgesinin filogenetik analizi sonucu Kızılırmak izolatları arasında %97,2-100,0, dünyadan diğer *Simulium* izolatları ile aralarında ise %87,0-100,0 oranında identiklik belirlenmiştir. Mt-COI gen bölgesine göre Kızılırmak izolatları Litvanya'dan GenBank'a kayıt yapılmış *S. equinum* izolatları ile identik bulunmuş ve *S. (Wilhelmia) equinum* olarak tanımlanmışlardır. Ribozomal ITS-2 ve 28S gen bölgelerinin filogenetik analiz sonucu ise Kızılırmak izolatları arasında %97,6-100,0, dünyadan diğer *Simulium* izolatları ile ise %75,6-85,8 oranında identiklik belirlenmiştir. Ribozomal ITS-2 gen bölgesine göre tüm Kızılırmak izolatlarının analize tabii tutulan diğer izolatlarla göre ayrı filogenetik branşta yer aldığı saptanmıştır. Sonuç olarak bu çalışma ile Türkiye'de ilk kez Orta Kızılırmak Havzasında sorun oluşturan *Simulium* türlerinin moleküler karakterizasyonları yapılmıştır ve *Simulium (Wilhelmia) equinum*' un varlığı ortaya konmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Simuliidae, Kızılırmak, Nevşehir, larva, Moleküler karakterizasyon

**THE MOLECULAR CLASSIFICATION OF BLACK FLY (DIPTERA:  
SIMULIIDAE) SPECIES WHICH POSE A PROBLEM IN NEVŞEHİR PART OF  
CENTRAL KIZILIRMAK BASIN**

**Erciyes University, Graduate School of HealthScience  
Department of Veterinary Parasitology  
Master's Thesis, December 2011  
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM**

**ABSTRACT**

This study was carried out to determine the molecular characterization of simuliid species which cause a problem in the part of Kızılırmak localized in Ürgüp and Gülşehir districts of Nevşehir. Between May and September 2011, totally 150 simuliid larvae were collected from three collection sites, one in Ürgüp and the other two are in Gülşehir. Morphological examination was performed before molecular analyzes. Genomic DNA extractions were utilized on 7 larvae selected from sampled area and PCR analyses were performed with the primer pairs that amplified mitochondrial partial cytochrome oxidase subunit 1 and ribosomal complete internal transcript spacer 2 and partial 28S gene regions. Sequence analyses using the same primer pairs were performed on the obtained amplicons in order to phylogenetic analyses of related gen regions. GenBank records of isolates were done and performing multiple alignments between the obtained isolates and other similar isolates from the world completed phylogenetic analyses. All of the 150 larvae showed the general characteristics of *Simulium* sp. according to morphological analyses. The identity rates between the Kizilirmak isolates and other isolates form the world was determined as %97,2-100,0 and %87,0-100,0 according to the phylogenetic analyses of mt-COI gene region. Kizilirmak isolates were identical to the *S. equinum* isolates recorded from Lithuania to the GenBank according to the mt-COI gene region and identified as *S. (Wilhelmia) equinum*. While the identity rates between the Kizilirmak isolates and other isolates form the world were determined as %97,6-100,0 and %75,6-85,8 according to the phylogenetic analyses of ribosomal ITS-2 and 28S gene regions. All Kizilirmak isolates were placed in a separate phylogenetic group with the other analyzed isolates according to the ribosomal ITS-2 gene region. In conclusion the molecular characterization of *Simulium* species from Central Kızılırmak Basin was firstly revealed in Turkey with this study.

**Key words:** Simulidae, Kızılırmak, Nevşehir, larvae, Molecular characterization

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
İÇ KAPAK .....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI .....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI .....	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
ÖZET .....	vi
ABSTRACT .....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. <i>SIMULIUM</i> TÜRLERİNİN SINIFLANDIRMADAKİ YERİ .....	3
2.2. <i>SIMULIUM</i> TÜRLERİNİN MORFOLOJİSİ.....	4
2.3. YAŞAM DÖNGÜSÜ .....	5
2.3.1.Yumurta .....	6
2.3.2.Larva.....	6
2.3.3.Pupa.....	6
2.3.4.Ergin .....	7
2.4. ÜREME.....	7
2.5. BESLENME.....	8
2.6. <i>SIMULIUM</i> TÜRLERİNİN ZARARLARI VE VEKTÖRLÜK ROLLERİ.....	8
2.7. TÜRKİYEDE <i>SIMULIID</i> SİNEKLER ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR...9	9
2.8. <i>SIMULIID</i> SİNEKLER ÜZERİNE YAPILAN MOLEKÜLER ÇALIŞMALAR .10	10
2.9. <i>SIMULIUM</i> TÜRLERİ İLE MÜCADELE .....	11
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	18
3.1. SAHA ÇALIŞMALARI .....	18
3.1.1. Araştırma Sahası.....	18
3.1.2. Simuliid Larvalarının Toplanması.....	20

	<u>Sayfa no</u>
3.2. LABARATUVAR ÇALIŞMALARI .....	21
3.2.1. Morfolojik İnceleme .....	21
3.2.2. Moleküler İnceleme .....	21
3.2.2.1.Genomik DNA Ekstraksiyonu.....	21
3.2.2.2. DNA Amplifikasyonu ve Elektroforez .....	22
3.2.2.3. Sekanslama ve Filogenetik Analiz.....	23
4. BULGULAR .....	24
4.1. SIMULIID ÖRNEKLEMESİ YAPILAN İSTASYONLARIN ÖZELLİKLERİ .....	24
4.2. MORFOLOJİK ANALİZ SONUÇLARI .....	26
4.3. MOLEKÜLER ANALİZ SONUÇLARI.....	28
4.3.1.PCR Sonuçları .....	28
4.3.2.Sekans Analizi Sonuçları .....	30
4.4. FİLOGENETİK ANALİZ SONUÇLARI .....	41
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	59
6.KAYNAKLAR.....	64
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

## TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 3.1.</b> <i>Simulium</i> larvalarının toplandığı odak ve larva sayıları .....	20
<b>Tablo 4.1.</b> GenBank kayıtları yapılan <i>Simulium</i> sp. izolatların incelenen gen bölgesi, izolasyon yeri ve kaynağı ile GenBank aksesyon numaraları.....	30
<b>Tablo 4.2.</b> mt-COI gen bölgesi için dünyadan Multiple alignment dahil edilen diğer bazı <i>Simulium</i> izolatlarının aksesyon numaraları ve izolatlara ait bilgiler .....	42
<b>Tablo 4.3.</b> Multiple alignmentları yapılan pozitif izolatlar ve Dünyadan diğer bazı izolatların nükleotid kompozisyonları .....	43
<b>Tablo 4.4.</b> Ribozomal ITS-2 ve 28S gen bölgeleri için dünyadan Multiple alignment dahil edilen diğer bazı <i>Simulium</i> izolatlarının aksesyon numaraları ve izolatlara ait bilgiler.....	51
<b>Tablo 4.5.</b> Multiple alignmentları yapılan pozitif izolatlar ve Dünyadan diğer bazı izolatların nükleotid kompozisyonları .....	52
<b>Şekil 2.1.</b> <i>Simulium</i> türlerinin sistematikteki yeri.....	4
<b>Şekil 2.2.</b> Ergin <i>Simulium</i> sp. ....	5
<b>Şekil 2.3.</b> <i>Simulium</i> türlerinde hayat siklusu .....	7
<b>Şekil 2.4.</b> Kızılırmak çevresinde insan ve hayvanlara saldıran <i>Simulium</i> türleri.....	12
<b>Şekil 2.5.</b> <i>Simulium</i> sp. salgınının görüldüğü Orta Kızılırmak havzası.....	14
<b>Şekil 3.1.</b> Örneklem istasyonu A .....	19
<b>Şekil 3.2.</b> Örneklem istasyonu B.....	19
<b>Şekil 3.3.</b> Örneklem istasyonu C.....	20
<b>Şekil 3.4.</b> Simuliid larva örnekleme yapılan istasyonların harita üzerinde görünümü ...	21
<b>Şekil 4.1.</b> <i>Simulium</i> yumurtaları. ....	25
<b>Şekil 4.2.</b> Su bitkisine tutunmuş <i>Simulium</i> sp. larvaları. ....	25
<b>Şekil 4.3.</b> <i>Simulium</i> larvası.....	26
<b>Şekil 4.4.</b> <i>Simulium</i> sp. larvaları (Orijinal).....	27
<b>Şekil 4.5.</b> <i>Simulium</i> sp. larvası (Orijinal) .....	27
<b>Şekil 4.6.</b> Simuliid larvalarının complete ITS-2 ve parsiyel 28S gen bölgesini amplifiye eden ITS2F ve ITS2R primerleri ile PCR sonucu elde edilen pozitif amplikonların jel elektroforezde görünümü.....	28
<b>Şekil 4.7.</b> Simuliid larvalarının parsiyel COI gen bölgesini amplifiye eden LCO1490 ve HCO2198 primerleri ile PCR sonucu elde edilen pozitif amplikonların jel elektroforezde görünümü .....	29
<b>Şekil 4.8.</b> <i>Simulium</i> sp.'nin complete ITS2 ve parsiyel 28S ribozomal gen bölgesinin amplifikasyonu sonrası jel pürifiye edilen örneklerin jel elektroforezde görünümü .....	29
<b>Şekil 4.9.</b> Simuliid larvalarının parsiyel mt-COI gen bölgesinin amplifikasyonu sonrası jel pürifiye edilen örneklerin jel elektroforezde görünümü.....	30
<b>Şekil 4.10.</b> Kızılırmak 1 izolatının parsiyel mt-COI nükleotid ve aminoasit sekansları.....	31

<b>Şekil 4.11.</b>	Kızılırmak 2 izolatının parsiyel mt-COI nükleotid ve aminoasit sekansları .....	32
<b>Şekil 4.12.</b>	Kızılırmak 3 izolatının parsiyel mt-COI nükleotid ve aminoasit sekansları .....	33
<b>Şekil 4.13.</b>	Kızılırmak 4 izolatının parsiyel mt-COI nükleotid ve aminoasit sekansları .....	34
<b>Şekil 4.14.</b>	Kızılırmak 5 izolatının parsiyel mt-COI nükleotid ve aminoasit sekansları .....	35
<b>Şekil 4.15.</b>	Kızılırmak 6 izolatının parsiyel mt-COI nükleotid ve aminoasit sekansları .....	36
<b>Şekil 4.16.</b>	Kızılırmak 7 izolatının parsiyel mt-COI nükleotid ve aminoasit sekansları .....	37
<b>Şekil 4.17.</b>	Kızılırmak 1 izolatının parsiyel ribozomal ITS-2 ve 28S nükleotid sekansı .....	38
<b>Şekil 4.18.</b>	Kızılırmak 2 izolatının parsiyel ribozomal ITS-2 ve 28S nükleotid sekansı .....	38
<b>Şekil 4.19.</b>	Kızılırmak 3 izolatının parsiyel ribozomal ITS-2 ve 28S nükleotid sekansı .....	39
<b>Şekil 4.20.</b>	Kızılırmak 4 izolatının parsiyel ribozomal ITS-2 ve 28S nükleotid sekansı .....	39
<b>Şekil 4.21.</b>	Kızılırmak 5 izolatının parsiyel ribozomal ITS-2 ve 28S nükleotid sekansı .....	40
<b>Şekil 4.22.</b>	Kızılırmak 6 izolatının parsiyel ribozomal ITS-2 ve 28S nükleotid sekansı .....	40
<b>Şekil 4.23.</b>	Kızılırmak 7 izolatının parsiyel ribozomal ITS-2 ve 28S nükleotid sekansı .....	41
<b>Şekil 4.24.</b>	Araştırma yöresinde GenBank'a kayıtları yapılan <i>Simulium</i> sp. izolatlarının ve Dünyadan filogenetik analize dahil edilen diğer <i>Simulium</i> izolatların parsiyel mt-COI nükleotid dizilimlerinin pairwise analizleri .....	44
<b>Şekil 4.25.</b>	Araştırma yöresinde incelenen <i>Simulium</i> sp. izolatları ile Dünyadaki diğer bazı <i>Simulium</i> izolatlarının parsiyel mt-COI gen bölgesine göre nükleotid dizilimlerinin alignmentları .....	49
<b>Şekil 4.26.</b>	Kızılırmak izolatları ile GenBank'a kayıtlı diğer <i>Simulium</i> izolatlarının parsiyel mt-COI gen bölgesine göre filogenetik akrabalıkları .....	50
<b>Şekil 4.27.</b>	Araştırma yöresinde GenBank'a kayıtları yapılan <i>Simulium</i> sp. izolatlarının ve Dünyadan filogenetik analize dahil edilen diğer <i>Simulium</i> izolatların ribozomal complete ITS-2 ve parsiyel 28S nükleotid dizilimlerinin pairwise analizleri ...	53
<b>Şekil 4.28.</b>	Araştırma yöresinde incelenen Kızılırmak izolatları ile Dünyadaki diğer bazı <i>Simulium</i> izolatlarının ribozomal complete ITS-2 ve parsiyel 28S gen bölgesine göre nükleotid dizilimlerinin alignmentları .....	57
<b>Şekil 4.29.</b>	Kızılırmak izolatları ile GenBank'a kayıtlı diğer <i>Simulium</i> izolatlarının parsiyel ribozomal ITS-2 ve 28S gen bölgesine göre filogenetik akrabalıkları .....	58



## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Diptera dizisi, Nematocera dizialtı ve Simuliidae ailesinde yer alan karasinekler ( Black Flies ) hem insan hem de hayvan sağlığını tehdit etmelerinin yanında ekonomik ve ekolojik bakımdan da önemli insektlerdir (1). Orta Kızılırmak Havzası'nda Yamula Barajının 2006 yılında faaliyete geçmesi ile birlikte Kızılırmak Nehri'nin Kayseri ve Nevşehir illerinden geçen yaklaşık 150 kilometrelik kısmında *Simulium* sp. popülasyonunda afet boyutunda büyük bir artış meydana gelmiş ve bölgede *Simulium* spp. salgını baş göstermiştir (2). Kayseri Valiliği'nin koordinatörlüğünde 2007 yılında başlatılan ve halen devam eden mücadele projesi ile karasinek sayısındaki artış kısmen de olsa engellenmiştir (2). Ancak biotik potansiyeli yüksek olan bu sineklerin oluşturdukları tehdit devam etmektedir. Yörede yürütölen mücadeleye rağmen, probleme yol açan Simuliidae tür veya türlerinin belirlenmesine yönelik moleküler tabanlı bir araştırma henüz yapılmamıştır. Böyle bir araştırma Türkiye'de de yoktur. Simuliidae ailesindeki türlerin morfolojik identifikasyonları oldukça kompleks olup, beraberinde bir takım teşhis hatalarına yol açabilmektedir. Günümüzde moleküler biyolojinin gelişimine paralel olarak, özellikle çeşitli mitokondrial ve ribozomal gen bölgelerininin amplifikasyonu ve DNA dizi analizleriyle Simuliidlerin klasifikasyonunun ön plana çıktığı görölmektedir. Bununla birlikte Orta Kızılırmak Havza'sı Kapadokya içerisinde yer alması ve yörenin çok önemli bir turizm potansiyeline sahip olması, dünyanın hemen her bölgesinden yılda yaklaşık üç milyon

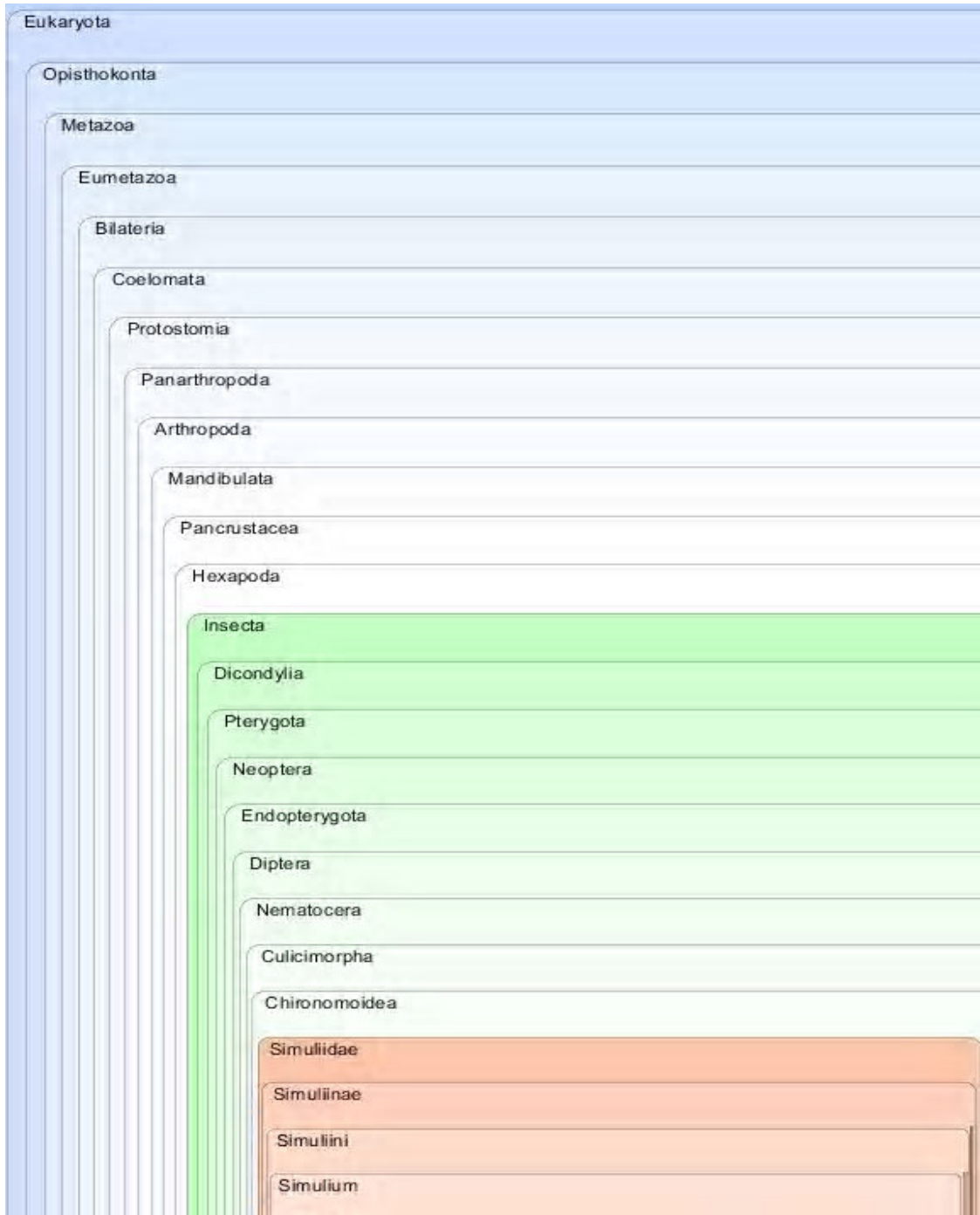
civarında yabancı turistin yöreye gelmesi bu sineklerin vektörlüğünü yaptığı çeşitli patojenler ve oluşturdukları risk potansiyeli açısından da çok önemlidir (2). Bu çalışmada, yörede sorun teşkil eden Simuliid larvalarının mitokondriyal cytochrome oxidase subunit 1 ve ribosomal internal transcript spacer 2 ve 28S gen bölgelerinin moleküler analizlerinin yapılarak, izolatların moleküler karakterlerinin ve filogenilerinin dünyadaki diğer simuliid izolatları ile kıyaslanarak ortaya konulması ve izolatlara ait gen dizilimlerinin Türkiye'nin biyolojik varlıkları olarak GenBank'a kayıt edilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. *SIMULIUM* TÜRLERİNİN SINIFLANDIRMADAKİ YERİ

Dünyada yaklaşık 1750 türü kapsayan *Diptera* dizisi içerisinde *Nematocera* dizi bölümünde yer alan ve dünyanın her bölgesinde görülebilen önemli ailelerden birisi de *Simulidae* (Karasinekler, Blackflies) ailesidir. Simulidae ailesinde bu güne kadar 2101'i yaşayan, 12'si ortadan kalkmış (fossil) toplam 2113 tür tarif edilmiş ve bunların 1697'si *Simulium* soyunda yer almıştır (1). Bu türlerin çoğunda dişilere dünyanın çeşitli bölgelerinde yerel halk tarafından değişik isimler [Buffalo Gnats (İngiltere), mawi (Afrika), pium veya borrachudos (Brezilya), potu (Hindistan), jejenes (Venezuela), bocones (Kosta Rika), rodadores (Küba), karasinek, kanbur sinek, mucuk veya üvez (Türkiye)] verilmiştir.

*Simulium* türlerinin Systema Naturae 2000'e göre sistematikteki yeri Geneious 5.0 yazılımında hazırlanarak Şekil 2.1'de verilmiştir (3).



Şekil 2.1. Simulium türlerinin sistematikteki yeri

## 2.2. SIMULIUM TÜRLERİNİN MORFOLOJİSİ

Simuliidler; Küçük, esmer, kalın vücutlu, kambur sırtlı Nematocercelerdir (Şekil 2.2). Simuliumlar dışarıda yaşarlar (exophilic) ve dışarıda beslenirler (exophagic). Kanat uzunlukları 1,5-6 mm ve genellikle gündüzcü sineklerdir. Dişilerde tek tek elementlerden oluşmuş (ommatidia) olan gözler küçük ve antenlerin dorsalinde ayrı olarak yer almıştır. Erkeklerde ise gözler daha geniş ve antenlerin dorsalinde

bitişiktirler. Antenler her iki cinstede ayındır ve genellikle 11 segmentlidirler. Palpler 5 segmentli olup kısa olan hortumdan oldukça uzundurlar. Kanatlar kısa, geniş, pulsuz, beneksiz ve parlaktır. Ven dolaşımı kanadın ön kenarı boyunca uzanan iyi gelişmiş radial venlerle karakterizedir. Zayıf görünümüne rağmen kanatlar oldukça güçlüdürler. Bu sayede uzak mesafelere uçuş yeteneği kazanmışlardır. Durgun havalarda 100 km'den fazla uçabilirler. Etkin uçuş alanları 18 kilometrelik çap içerisinde (4, 5).



Şekil 2.2. Ergin *Simulium* sp.

### 2.3. YAŞAM DÖNGÜSÜ

Karasineklerin pek çok türünde yaşam siklusunda farklılıklar vardır. Simuliidlerin larva dağılımına etki eden en önemli etkenler mevsim, akıntı hızı, madde tipi ve su derinliğidir. Yumurtaları yaygın olarak 30-800 arasında, ortalama 200-300'lük gruplar halinde akan suların kenarlarına ya da direkt olarak suyun içine bırakılır (5-7).

### 2.3.1. Yumurta

Yumurtalar, önce krem-beyaz, sonra siyaha yakın bir renge dönüşürler. 100-400 µm uzunluğunda ve oval-üç köşelidir. Yüzeyleri düzdür. Gözle görülebilir yumurta kabuğu iç yumurta membranı ve endokoryondur ya da çok az koryonik plastron gelişmiştir (6, 7). Oksijen basıncının yüksek olduğu akıntılı suların yüzeylerine bırakılan yumurtalar da iyi gelişmiş bir plastrona gereksinim yoktur. Sonbaharın sonlarında bırakılan yumurtalardan takip eden baharda su sıcaklığı yükselene kadar larva çıkışı olmaz. Simuliid yumurtaları kuruluğa karşı hassastırlar (5-7).

### 2.3.2. Larva

Yumurtalar, larva üretmek için açılırlar. Hava sıcaklığı 20-22°C iken 4-5 günde yumurtadan larva çıkar. Larva kuyruk emicisi (*sucker*) ile taş, kütük veya su bitkileri gibi herhangi bir objeye tutunur ve ipeksi ipliği ile ıslanmaktan korunur. Larva, kendi yaşamını sürdürüp yerleşebileceği bir yer bulur ve orayı ipek bir ağ ile (zarla) örmeye devam eder. Aynı zamanda larvalar maddelere tutunmak için bol miktarda protein yapıştırıcı da üretirler. Larvalar su yüzeyine yakın kalırlar. Hızlı akımın olduğu çok büyük nehirlerde larvalar birkaç metre derinlikte bulunabilirler. Larvalar bir çift basit göz, sklerozite başı ve kum saati gibi uzamış vücuda sahiptir. Vücutları 90°-180° bükülme hareketi yapar. Baş kısmında yelpaze taşımaktadır. Larvalar genellikle 10-100 µm büyüklüğündeki organik besinlerle (mikroorganizmalar, Örn: Bakteriler) beslenirler. Bunlar su akımının hızlandığı yerlerde boldur (5-7).

### 2.3.3. Pupa

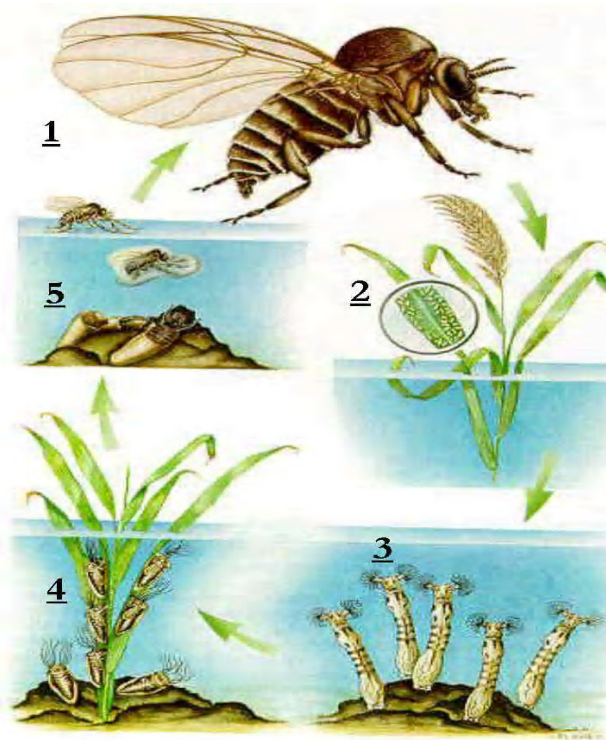
Son larva döneminden sonraki gelişim evresidir. Pupanın başı ve toraksı tek bir parça halinde yani sefalotoraks içinde birleşmiştir ve segmentli bir karın bulunmaktadır. Toraks, dikenleri ve koza iplikleri ile ilgili kancaları oluşturur ve pupa yerinde kalır. Sefalotoraks kozanın akım yönüne doğru yer değiştiren bir çift uzamış dallara ayrılmış solungaçlar taşır. Beslenmeyen pupa, içinde erişkin geliştiğinden gitgide kararır. Pupa kabukları dağıldığında erişkin hava akımıyla sürüklenir ve hemen uçmaya başlar (5-7).

### 2.3.4. Ergin

Pupadan ergin sineklerin çıkması, genellikle ve çoğunlukla ışık ve ısıya bağlı olarak gündüz olmaktadır. Pupadan erginlerin çıkışı, hava sıcaklığı 24-28 °C aralığında ve su sıcaklığı en düşük 8 °C iken olmakta ve 9.00-12.00 saatleri arasında pik seviyeye ulaşmaktadır (5-7).

### 2.4. ÜREME

Ergin sinekler üreme yerlerinde birbirlerine yaklaşırlar ve çiftleşme yerde şekillenir. Erkek simulidler dişileri 50 cm'den tanıyabilir ve çiftleşmek için onlara yönelirler. Döllenen dişi simulid 30-800 adet yumurta bırakabilir. Döllenen dişiler sürü halinde gün batımı ve karanlığın başladığı zaman aralığındaki kısa sürede yumurtalarını akışkan olan su üzerindeki otlara bırakırlar. Bazı türler cm<sup>2</sup>'ye 2000-3000 yumurta bırakırlar. Kara sinekler sadece hızlı akan sularda, barajlardan bırakılan sularda, özellikle hidro elektrik barajlarında tribünlerden çıkan sularda ve dağlardan nehirlere akan su kesimlerinde üremektedirler (5-7). *Simulium* türlerinde biyolojik siklus Şekil 2.3'de verilmiştir.



Şekil 2.3. *Simulium* türlerinde hayat siklusu, 1: Ergin sinek; 2: Yumurtlama; 3: Larva; 4: Pupa; 5: Pupadan çıkış

## 2.5.BESLENME

*Simulium* spp. dişileri gündüzleri konaklarından kan emmek için saldırırlar. Bazı türler, vücudun burun, kulak ve göz gibi organlarına girmek isterler. Bu özellikleri insanları ve evcil hayvanları rahatsız eder. Erkekleri ise bitki özütü ile beslenirler. Dişi simuliidlerin çoğu yumurtaların gelişimi için kan emmeye ihtiyaç duyarlar. Bu amaçla insan ve birçok memeliden kan emebilirler. Erkekler ise bitki nektarı ile beslenirler. Bu sinekler özellikle gündüz 9.<sup>00</sup> - 17.<sup>00</sup> saatleri arasında maksimum aktivite gösterirler. Kan emen dişilerin ömrü 30 güne kadar uzarken bitki özütü ile beslenen erkekler ortalama 10 gün yaşarlar (5-7).

## 2.6. SIMULIUM TÜRLERİNİN ZARARLARI VE VEKTÖRLÜK ROLLERİ

Simuliidler bizzat kan emerek zarar vermeleri yanında, pek çok patojeni de naklederler. Bu şekilde patojenlere vektörlük yapmaları medikal ve veteriner önemlerini daha da artırmaktadır. Bu sinekler insan ve hayvanların ağız, burun delikleri, gözleri, kulakları başta olmak üzere vücudun değişik bölümlerime saldırarak rahatsızlık verirler. Çok az ses çıkarırlar ancak, aydınlanmış ortamlarda derhal derinin üzerine konarak kan emerler. Genellikle çok sayıda ortaya çıkarlar, kümes hayvanları ve diğer çiftlik hayvanlarına sürüler halinde saldırarak hayvanların solunum yollarını tıkayarak ve/veya toksinleri (similotoksikozis) ile ölümlere sebebiyet verebilirler. Bu sineklerin sokmaları oldukça irritatiftir. Vücudun açıkta kalan bölümlerini, özellikle yüz ve boyun bölgelerini sokarlar. Simulid karasinekler tarafından insanlara nakledilen en önemli parazitler *Onchocerca volvulus* ve *Mansonella ozzardi* türü nematodlardır. Bu türler, dünyanın Afrotropikal ve Netropikal bölgelerinde yaklaşık 17 milyon insanın yakalandığı “onchocerciasis veya nehir körlüğü” olarak bilinen hastalıktan sorumludurlar. Bunun yanında kanatlılara *Leucocytozoon* enfeksiyonunu bulaştırırlar. Simuliidler kan emerek yaptıkları parazitliğin yanında *Onchocerca volvulus*, *O. gutturosa*, *O. cervipedis*, *O. dukei*, *O. lienalis*, *O. ochengi*, *O. ramachandrini*, *O. tarcicola*, *Dirofilaria ursi*, *Splendidofilaria fallisensis*, *Mansonella ozzardi*, *Trypanosoma avium*, *Try. confusum*, *Try. corvi*, *Try. numidae*, *Leucocytozoon anatis*, *L. smithi*, *L. caulleryi*, *Hemoproteus nettionis* türleri gibi parazitlerin yanında çeşitli viral (Arbovirus) ve bakteriyel patojenlerin de vektörlüğünü yaparlar (1, 5-7).

Tıbbi önemlerinin yanında, Simuliidler akarsu ekolojisinin temelini oluştururlar. Zira bu sineklerin aquatik gelişim evreleri (larva) buldukları sudaki çözünmeyen organik



maddelerin filtrasyonunu sağlayarak besin zincirinde suyun içilebilir hale gelmesinde katkıda bulunurlar. Karasinekler, temiz su kaynaklarının çevre kirliliğine karşı düzenli kontrollerinde de çok önemlidirler. Çünkü aquatik gelişim evreleri nehirler gibi temiz su yataklarının organik ve inorganik kontaminantlara (örn., şeker fabrikası atıkları, çiftliklerden gelen hayvansal atıklar, tarıma açık ekilip biçilen alanlardan çevreye yayılan zirai mücadele ilacı insektisitler ve gübreler) karşı oldukça duyarlıdırlar. Karasinekler, ayrıca morfolojik olarak türlerin oluşumunun ve retikulat evrimin anlaşılmasında korunumlu özel bir evrimsel öneme sahiptirler (1, 5-7).

Simuliidae, morfolojik olarak oldukça homojen bir ailedir. Bu sinekler, medikal ve veteriner önemleri oldukça yüksek olmasına karşın genellikle ihmal edilmişlerdir. Simuliidlerin taksonomisinde çeşitli problemler vardır. Öncelikle dünya üzerinde halen çeşitli bölgesel Simuliid faunalar hakkında bilgiler yetersizdir. Yeni bulunduğu alanlarda bunlarla ilgili olarak biofarklılık araştırmalarına ve revizyoner çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bunun yanında hali hazırda supraspesifik klasifikasyon stabil olmayıp problemlidir. Birçok tür veya tür grupları yanlış soylarda klasifiye edilmektedir (1, 5-7).

Çeşitli kan emici Diptera türlerinde beslenme için konak tercihi çeşitli enfeksiyözler için risk faktörlerinin ortaya konulmasında önemli olduğu bildirilmiştir. Bu amaçla kanatlı, memeli ve diğer omurgalıları spesifik mitokondriyal gen bölgelerini çoğaltan primerler kullanılmaktadır (8, 9).

## 2.7. TÜRKİYE'DE SİMULİİD SİNEKLER ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Türkiye'de günümüze kadar simuliid sinekler ve onların etkileri üzerine yapılmış kapsamlı çalışmalar çok sınırlıdır. Bununla birlikte, 1994 yılı ilkbaharında Erzurum'un bazı ilçelerinde sığırların günün güneşli saatlerinde küçük karasinek saldırıları sonucu yaklaşık 100 hayvanın öldüğü vakada, sığırlara saldıran ve ölüme sebep olan küçük karasineklerin Almanya'da yapılan laboratuvar teşhisleri sonucu *Tetisimulium bezini* (Corti) (= *T. condici* Baranov) (Diptera, Simuliidae) olduğu ortaya konmuştur (10). Daha sonra Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında bir kadına ait idrar örneğinde *Simulium* sp. larvası bildirilmiştir (11). Türkiye'nin *Simulium* faunasına katkı sağlayacak sınırlı sayıda çalışma rapor edilmiştir (2, 10, 12-22). Bu çalışmalardan Kazancı ve Cleargue-Gazeau, (12) Türkiye'de Simuliidae faunası üzerine ilk detaylı çalışmayı yapmışlar ve 22 tür (20'si yeni kayıt)

rapor etmişlerdir. Takiben Cleargue-Gazeau ve Kazancı, (13) Türkiye’de 26 türü (7’si yeni kayıt) bildirmişlerdir. Balık ve ark., (14), Dikili-Ayvalık yöresinde Yelköprü mağarası ve civarının sucül faunasının tespiti amacıyla yaptıkları çalışmada *Eusimulium angustitarse*’yi rapor etmişlerdir. Şirin ve Şahin (15), Sakarya Nehir Havzası’nda 23 türü (10’u yeni kayıt) rapor etmişlerdir. Crosskey ve Zwick (16), Türkiye’nin Anadolu bölümünde 9 yeni türü tarif etmişlerdir. Yine Zwick (17), daha önce kaydedilmiş türlerin yeni istasyonlardan kayıtlarını vermiştir. Kazancı ve Ertunç (18), Türkiye Simuliidae faunasına ilişkin 19 türü (5’i yeni kayıt) ve bu türlerin bazı ekolojik özelliklerini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar (19), Türkiye’nin kuzey, batı ve güneyinden topladıkları örneklerde 15 tür (5’i yeni kayıt) tanımlamışlardır. Ertunç ve ark., (20), Yedi Göller Milli Parkı’nda Simuliidae faunası üzerine yaptıkları araştırmada 7 tür tanımlamışlardır. Ertunç (21), Türkiye’nin batısındaki bazı akarsu sistemlerinin (Köyceğiz Gölü çevresi, Büyük Menderes Nehri çevresi ve Yedigöller Milli Parkı) Simuliidae faunası üzerine yaptığı çalışmada 1 alt familyaya ait 2 cins, 5 alt cins ve 17 tür saptamıştır. Kazancı ve Ertunç (22), Yeşilirmak Nehir Havzası’nın Simuliidae faunasını ve Simuliidae türlerinin su kalitesi ile ilişkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada 10 tür (1’i Yeşilirmak Havzası için ilk kayıt) tanımlamışlardır. Diğer yandan Yılmaz ve ark. (2) Kayseri-Nevşehir arasında kalan Orta Kızılırmak alanında *Simulium* enfestasyonlarının afet boyutundaki artışını rapor etmişlerdir.

## **2.8.SİMULİİD SİNEKLER ÜZERİNE YAPILAN MOLEKÜLER ÇALIŞMALAR**

Simulidlerin taksonomik klasifikasyonu konvansiyonel olarak larvada kromozomal analiz, pupada morfoloji ve erginlerinde dış yapı morfolojisine dayanmaktadır. Tür ayrımı morfolojik ve sitolojik olarak çok zordur (5, 23, 24). Bunun yanında bu aile için geniş çaplı kladistik filogenetik çalışmalar sadece birkaç çalışma ile sınırlıdır (5, 25, 26). Karasineklerin taksonomisi ile ilgili DNA sekans çalışmaları 16S ribozomal RNA ve transfer RNA (28) gen bölgelerinin araştırılmasıyla başlamıştır. Daha sonra ise 16S rRNA ve NADH subunit 4 (ND4) gen bölgeleri kısmen kullanışlı olmuştur (5, 29, 30). Son yıllarda ise *Simulium* türlerinin DNA tabanlı klasifikasyonunda ise ITS (Internal transcribed spacers) (31) ve COI (Cytochrome oxidase I) (32) gen bölgeleri polimorfik bölgeleri ve bu şekilde özgüllüğü yüksek moleküler klasifikasyon yapılmaya başlanmıştır.

Hebert ve ark.(33, 34) Simuliidae ailesindeki türlerin identifikasyonu için DNA'nın mitokondrial sitokrom oksidaz gen bölgesinin yaklaşık 658 bp bölgesini amplifiye etmişlerdir. 5 cinse (*Prosimulium*, *Twinnia*, *Stegopterna*, *Cnephia* ve *Simulium*) ait 15 Nearktik karasinek türünde nükleer rDNA'nın ITS1 gen bölgesi Simuliidler üzerindeki ilk sistematik çalışmalardır. 18S ve 5.8S arasında bulunan ITS1 gen bölgesi çok değişken bir bölgedir (35). Simuliidler' deki ITS1 gen bölgesi çalışmaları onchocerciasis'in taşıyıcılığını yapan *Simulium damnosum* üzerinde yoğunlaşmıştır. *Simulium* türlerinin ITS1 gen bölgesi 240 nükleotitten 400 nükleotide kadar değişik uzunluktadır (36-38). Tayland da 29 *Simulium* türü bilinmektedir. Pramual ve ark. (39) Tayland da sitokrom oksidaz gen bölgesi tabanlı sekanslarda *Gomphostilbia* (*Simulium*) alt türünde 13 türü identifiye etmişlerdir.

16S rRNA ve ND4 (NADH dehydrogenase subunit 4) genlerinin mitokondriyal DNA sekanslarına bağlı olarak, Tang ve ark. (40) Batı Afrika'daki *Simulium damnosum*'un 6 suşu ile olan filogenetik yakınlığını göstermişlerdir. Aynı gen bölgeleri hem Afrika hemde Güney Amerikadaki farklı *Simulium* türlerinin filogenetik akrabalıkları üzerinde de çalışılmıştır (38, 41).

Krüger ve ark. (42), mitokondrial 16 S rRNA gen sekansı çalışmaları ile *Simulium damnosum*'un Doğu ve Batı Afrika suşlarının filogenetik akrabalığını ortaya koymuşlardır.

Higazi ve ark, (29), Sudan'ın farklı yerlerinden toplanan *Simulium* örneklerinin 16 S rRNA ve ND4 gen sekansları ile *S. damnosum* ve *S. sirbanum*'un filogenetik olarak birbirlerine yakın olduklarını göstermişlerdir.

## **2.9. SIMULIUM TÜRLERİ İLE MÜCADELE**

Simuliid sinekler Insekta sınıfında mücadelesi en zor olan arthropodlardandır. Bu sineklere karşı dünyanın çeşitli bölgelerinde mücadele programları uygulanmıştır. Özellikle sınır aşan nehirlerde, ülkeler arası işbirliği ile kapsamlı çalışmalar yürütülmüştür. Bu mücadelelerde Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) tarafından izin verilen larvicid etkili *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (Bti) kullanılmıştır. Kana'da (43), Amerika Birleşik Devletleri (7), Brezilya (44), Arjantin (6), Hindistan (45), Türkiye (3) ve Afrika kıtasının birçok bölümünde Simuliidae mücadelesinde Bti sistematik şekilde kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır.

### Orta Kızılırmak Havzasında Afet Boyutunda Yaşanan *Simulium* Enfestasyonu

Orta Kızılırmak Havzasında Kayseri ili Yemliha Kasabasında inşa edilerek 2003 yılında su tutmaya başlayan Yamula Barajının 2006 yılında faaliyete geçmesi ile birlikte Kızılırmak nehrinin Kayseri ve Nevşehir illerinden geçen 150 kilometrelik kısmında *Simulium* spp. popülasyonunda afet boyutunda büyük bir artış meydana gelmiş ve bölgede *Simulium* sp. salgını baş göstermiştir. Karbondioksite affinitesi olan ergin *Simulium* türleri, insanların ve hayvanların ağız ve burunlarına saldırdıkları için bölgede büyük rahatsızlık oluşturmuştur (Şekil 2.4). Bir turizm bölgesi olan Kapadokya'da *Simulium* afeti 2007 yılında büyük bir hızla ilerlemiş ve hem bölge turizmini hem de kırsal alanlarda çiftçilerin çalışmalarının yanı sıra insan ve hayvan sağlığını da tehdit eder duruma gelmiştir. Futbol turizminin ilerlemiş olduğu Nevşehir'in ilçesi olan Avanos'ta futbol takımları *Simulium* salgınından dolayı 2007 yılında bölgeyi terk etmeye başlamış, esnaflar iş yerlerine gidemez ve dükkanlarını açamaz hale gelmişler, hemen hemen günlük hayatın durma noktasına geldiği ilçede büyük ekonomik kayıplar meydana gelmiştir. Kapadokya bölgesinde turistik amaçlı tracking faaliyetleri, binicilik sporu gibi birçok turistik etkinlik sekteye uğramıştır. Orta Kızılırmak havzasında nehrin geçtiği bölgeler ve yakın çevresinde tarım ile uğraşan çiftçiler *Simulium* sp. nedeniyle mağdur olmuşlar ve tarlalarında çalışamaz duruma gelmişlerdir. Salgın nedeni ile merada otlayan hayvanlarda strese bağlı verim düşüklükleri gözlenmiştir. Bu şekilde Kapadokya bölgesinde gerek turizm gerekse tarım ve hayvancılık faaliyetleri üzerine büyük ölçüde olumsuz etkiler oluşturan *Simulium* türlerine karşı kapsamlı mücadele çalışmaları başlatılmıştır (2).



Şekil 2.4. Kızılırmak çevresinde İnsan ve Hayvanlara saldıran *Simulium* Türleri ( Orijinal )

## **Orta Kızılırmak Havzasının Yapısı**

### **Bölgenin Genel Yapısı**

Afet boyutunda simuliid enfestasyonunun görüldüğü ve mücadelenin yapıldığı Orta Kızılırmak Havzasının Yamula Barajından itibaren Kayseri ve Nevşehir illerinden geçen kısmı yaklaşık 150 kilometre olup nehrin 43 kilometresi Kayseri İl sınırları içerisinde, 107 kilometresi Nevşehir il sınırları içinde yer almaktadır (Şekil 2.5).

Kayseri ilinde Yamula Barajı Kocasinan İlçesinde inşa edilmiş olup nehrin barajdan sonraki kısmı Kocasinan ve İncesu ilçelerinden geçmektedir. Nehrin bu bölümünde nehir üzerinde dört adet köprü bulunmaktadır. Köprülerden birincisi Yemliha Kasabasında bulunmaktadır. İkinci Köprü İncesu ilçe sınırları içerisinde olan demiryolu köprüsüdür. Üçüncü köprü Kayseri-Ankara Otobanının nehir üzerinden geçtiği köprüdür. Dördüncü köprü ise Tekgöz Köprüsü olarak bilinen M.S. 1202 yılında yapılmış olan tarihi bir köprüdür.

Kızılırmak nehri Nevşehir ilinde ise sırası ile Ürgüp, Avanos ve Gülşehir ilçelerinden geçmektedir. Bu bölümde nehir üzerinde altı adet köprü bulunmaktadır. Bu köprülerden birincisi Sarıhıdır köyünde, üç tanesi Avanos ilçesinde, beşincisi Gülşehir ilçesinde ve altıncısı Nevşehir ile Kırşehir il sınırında Abuşağı Kasabasında yer almaktadır.

Yöre insanı, nehrin Kayseri ve Nevşehir illerinde geçen bölümünde ağırlıklı olarak geleneksel tarım ve hayvancılıkla uğraşmaktadır. Diğer yandan Nevşehir'in özellikle Avanos ve Ürgüp ilçelerinde turizm, başlıca ekonomik sektördür (2).



Şekil 2.5. *Simulium spp.* salgınının görüldüğü Orta Kızılırmak Havzası

### Orta Kızılırmak Havzasında *Simulium spp.* Salgınının Nedenleri

Yamula Barajı Hidroelektrik santralinin 2006 yılında faaliyete geçmesi ile birlikte *Simulium spp.* populasyonunda büyük bir artış meydana gelmiştir. Baraj faaliyete geçmeden önce ilkbahar aylarında kar sularının erimesi ve yağışların etkisi ile nehirde seller meydana gelmekte ve nehir tabanındaki bitki örtüsü temizlenmekte ve sellere bağlı olarak nehir yatağı alevuyon içermekteydi. Yamula Barajı Hidroelektrik Santralinin faaliyete geçmesi ile birlikte nehir debisi 80 metreküp/saniye ile 150 metreküp/saniye değerleri arasında sabitlenmiş olup nehir tabanındaki su bitkileri çok yıllık bitkiler haline dönüşmüştür. Bu bitkiler *Simulium* larvalarının yaz-kış tutunabilmesi için uygun bir ekosistem haline gelmiştir (2).

Yamula Barajı Hidroelektrik santrali inşasından sonra nehirde adeta bir süzgeç görevi görmüş ve nehirin temizlenmesine neden olmuştur. Yemliha Barajı Hidroelektrik Santrali tirübünü baraj gölü yüzeyinin 1003,53-973,53 metre aşağısından temiz ve soğuk suyu nehir yatağına vermekte ve 96,47 metre net dizayn düşüşü ile suyun oksijenlenmesine neden olmaktadır. Dişi *Simulium*'lar yumurtalarını bol oksijenli temiz akarsulara bıraktıkları için, bu su ortamı ergin *Simulium sp.* için çok uygun bir

yumurtlama alanını oluşturmuştur (1,2). Diğer yandan 2004 yılında Kayseri Atık Su arıtma tesisinin faaliyete geçmesi de nehir suyunun temizlenmesine katkı sağlamıştır.

Yamula Barajı ve Hidroelektrik santralinin nehirde bir süzgeç görevi görerek suyun temizlenmesini sağlaması, hidroelektrik santrali tirübünlerinden 96,47 metre net dizayn düşüşü ile nehir suyunun oksijen düzeyinin artması, nehrin debisinin barajın etkisi ile 80-150 metreküp/saniye aralığında sınırlanması ve Kayseri Atık Su Arıtma Tesisinin de nehir suyu temizliğine katkı sağlaması ile birlikte Kızılırmak Nehrinin Kayseri ve Nevşehir illerinden geçen 150 kilometrelik kısmı *Simulium* erginlerinin yumurtlayabileceği, larvalarının su altı bitkilerine kolaylıkla tutunabileceği ve bu bitkiler üzerinde kolaylıkla yaşam döngüsünü devam ettirip önce pupa yaşam formu, daha sonra ergine dönüşebileceği uygun bir ekosistem haline gelmesi bölgede *Simulium* salgınına neden olmuştur (2).

### ***Simulium* Salgınının Bölgeye Etkileri**

#### **Turizm Üzerine Etkileri**

Bölge, 60 milyon yıl önce Erciyes, Hasandağı ve Güllüdağ'ın püskürttüğü lav ve küllerin oluşturduğu yumuşak tabakaların milyonlarca yıl boyunca yağmur ve rüzgar tarafından aşındırılmasıyla ortaya çıkmıştır. İnsan yerleşimi *Paleolitik* döneme kadar uzanmaktadır. Hititler'in yaşadığı topraklar daha sonraki dönemlerde Hristiyanlığın en önemli merkezlerinden biri olmuştur. Kayalara oyulan evler ve kiliseler bölgeyi putperestlerin zulmünden kaçan Hristiyanlar için devasa bir sığınak haline getirmiştir. Kapadokya bölgesi, başta Nevşehir olmak üzere Kırşehir, Niğde, Aksaray ve Kayseri illerine yayılmış bir bölgedir. Kapadokya bölgesi, doğa ve tarihin bütünleştiği bir yerdir. Coğrafi olaylar Peribacaları'nı oluştururken, tarihi süreçte, insanlar da bu peribacalarının içlerine ev, kilise oymuş, bunları fresklerle süsleyerek, binlerce yıllık medeniyetlerin izlerini günümüze taşımıştır. İnsan yerleşimlerinin *Paleolitik* döneme kadar uzandığı Kapadokya'nın yazılı tarihi Hititlerle başlar. Tarih boyunca ticaret kolonilerini barındıran ve ülkeler arasında ticari ve sosyal bir köprü kuran Kapadokya, İpek Yolu'nun da önemli kavşaklarından biridir (2).

Bu özellikleri ile yerli ve yabancı birçok turistin ilgi odağı haline gelmiş olan bölge turizmi 2007 yılında *Simulium* spp salgınından dolayı olumsuz etkilenmiştir. Bölgeyi her yıl yaklaşık 3 milyonu civarında turist ziyaret etmektedir. *Simulium* sp. erginleri karbondioksit affinitelerinden dolayı insanların ağız ve burunlarına saldırarak büyük



rahatsızlıklar oluşturmaktadır. Sadece gündüz aktivitesi olan *Simulium* sp. erginleri özellikle havaların sıcak olduğu günlerde insanların nefes almalarını engelleyecek kadar yoğunlaşmakta ve insanların açık alanlarda dolaşmalarını engellemektedir. *Simulium* sp. salgınının çok yoğun görüldüğü 2007 yılı yaz mevsiminde bölgede bir çok insan maske takmayı tercih etmiştir (2).

Son yıllarda Nevşehir ili Avanos ilçesinde gelişen futbol turizmi de 2007 yılında ortaya çıkan *Simulium* salgınından olumsuz ölçüde etkilenmiştir. Spor yapan insanların solunumları hızlandığından daha çok karbondioksit salınımı yapmakta ve bu da *Simulium* erginlerinin futbolculara daha yoğun bir şekilde saldırmalarına neden olmaktadır. 2007 yılı Temmuz ayında Avanos İlçesini bir haftada *Simulium* salgını nedeni ile 40 tane futbol takımı terk etmiş ve bölgedeki futbol turizmi büyük sekteye uğramıştır (2).

### **Hayvancılık Üzerine Etkileri**

*Simulium* erginleri karbondioksit affinitelerinden dolayı insanlara olduğu kadar hayvanlarda rahatsızlık vermektedir. *Simulium* salgınının başladığı 2007 yılı yaz aylarında salgın özellikler büyük baş hayvanlarda burun deliklerini tıkayacak boyutlara ulaşmıştır. Merada otlayan hayvanlarda salgından dolayı aşırı rahatsızlık görülmüştür. Meraya çıkan hayvanların aşırı rahatsızlık duydukları ve beslenemedikleri gözlenmiştir. Hayvancılıkla uğraşan çiftçilerin sıcak yaz günlerinde bu rahatsızlıktan dolayı hayvanlarını meraya çıkartmak yerine ahırlarda kapalı tutmayı tercih ettikleri görülmüştür. Hayvanlarını meraya çıkartan çiftçilerin *Simulium* erginlerini uzak tutabilmek için merada ateş yakarak sürekli dumanlama yaptıkları gözlenmiştir. Bunun yanında *Simulium* erişkinleri kanatlılarda bir protozoon olan *Leucocytozoon* türlerine vektörlük yapmaktadırlar (2).

### **Tarımsal Faaliyetler Üzerine Etkileri**

*Simulium* türlerinin erkekleri bitki özütü ile, dişileri ise kan emerek ve bitki özütleri ile beslendiklerinden çoğunlukla yeşil alanlarda ve tarımsal arazilerde yoğunlaşmaktadır (1). Tarımla uğraşan çiftçiler 2007 yılında başlayan salgında tarlada verimli bir şekilde çalışmamışlardır. Çiftçilerin bu rahatsızlıktan korunmak için maske taktıkları görülmüştür (2).



## Halk Sağlığı Üzerine Etkileri

*Simuliidler* bizzat kan emmenin yanında insan ve hayvanlara saldırıları ile zarar verdikleri gibi birçok patojenin bulaştırılmasında da vektör olarak görev yapmaları bakımından önemlidirler. Az ses çıkarırlar ancak, aydınlanmış ortamlarda derhal derinin üzerine konarak kan emerler.

Sokma oldukça irritatiftir. Özellikle yüz ve boyunu ısırırlar. Simuliidlerle zoonotik karakterli nematodlardan *Onchocerca* türleri nakledilir. Nehir körlüğü olarakta bilinen *Onchocercosis* insanlarda kalıcığı körlüğe neden olmaktadır. Sokmalar genellikle ağrılı değildir ancak, birkaç gün süren bir kaşıntı, şişlik ve irritasyon oluşabilir. Zehir, bezler üzerine spesifik etkilidir ve kulaklarla boyunda *masoidite* benzer semptomlara neden olabilir (1,2).

Bu çalışmada, yörede sorun teşkil eden ve Kızıllarmak'ın Nevşehirin Ürgüp ve Gülşehir ilçelerinden geçen bölümünde bazı istasyonlardan toplanmış olan simuliid larvalarının mitokondriyal cytochrome oxidase subunit 1 ve ribosomal internal transcript spacer 2 ve 28S gen bölgelerinin moleküler analizlerinin yapılması, ve GenBank'a kayıtlı diğer simuliid izolatları ile kıyaslanarak moleküler karakterlerinin ve filogenilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

## **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

### **3.1. SAHA ÇALIŞMALARI**

#### **3.1.1. Araştırma Sahası**

Çalışma Mayıs-Eylül 2011 tarihleri arasında Kızılırmak nehrinin Nevşehir'in Ürgüp ve Gülşehir ilçelerinden geçen bölümünde, simuliid yoğunluğu dikkate alınarak belirlenmiş üç toplama istasyonunda gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3, Şekil 3.4.). Örnekleme yapılan bölgelerde eş zamanlı olarak GPS ile bölgenin koordinatları ve haritası çıkarılmıştır (Tablo 3.1). Aynı zamanda sıcaklık, pH ve rölatif nem ölçümü yapılmıştır. Bununla birlikte simuliidlerin biyolojisinde önem arz eden bölgenin nehir yatağı, vejetasyonu, suyun debisi ve karakteri gibi çeşitli özellikleri kayıt altına alınmıştır.



Şekil 3.1 Örnekleme istasyonu A



Şekil 3.2. Örnekleme istasyonu B



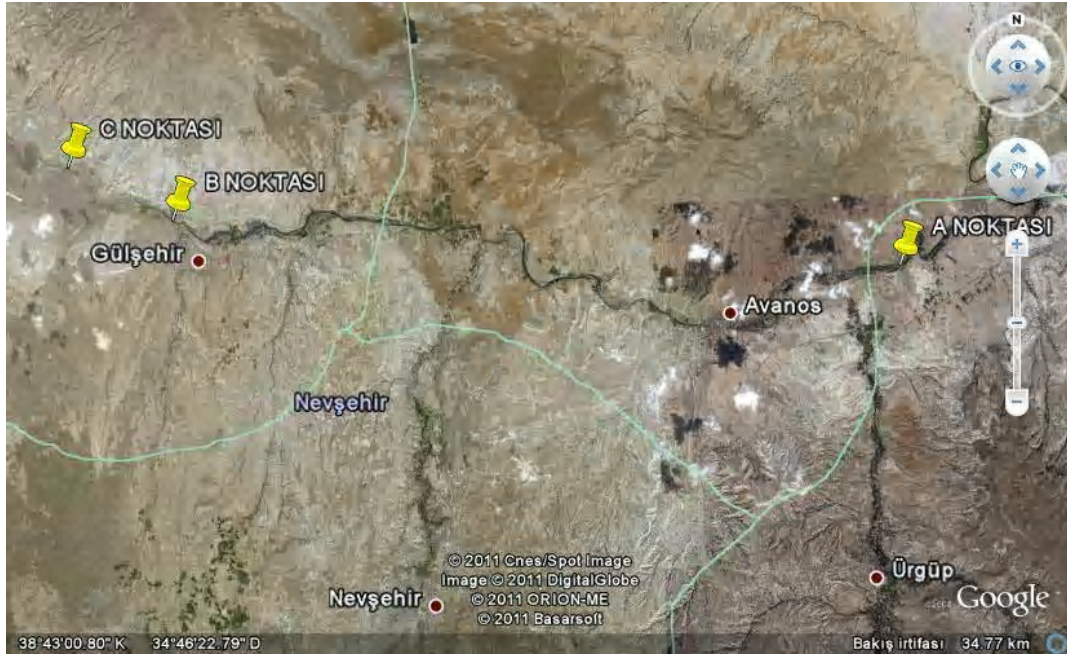
Şekil 3.3. Örnekleme istasyonu C

### 3.1.2. Simuliid larvalarının toplanması

Simuliid larvaları nehir yatağı içinde tutundukları bitkilerden forsepsler yardımı ile ağız vıda kapaklı vialler içerisine toplanmıştır. Fiksatif olarak simuliid larvaları için %95'lik etil alkol kullanılmıştır (46). Larva örnekleme yapılan odaklar ve toplanan larva sayısı Tablo 3.1'de verilmiştir.

**Tablo 3.1** *Simulium* larvalarının toplandığı odak ve larva sayıları

İstasyon	Koordinat	Bağlı olduğu merkez	Larva sayısı
A	38° 43'.58.78''K; 34° 55'.45.91''D	Ürgüp	50
B	38° 45'.25.17''K; 34° 36'.55.32''D	Gülşehir	50
C	38° 46'.33.74''K; 34° 34'.12.75''D	Gülşehir	50



Şekil 3.4. Simuliid larva örnekleme yapılan istasyonların harita üzerinde görünümü

## 3.2. LABORATUVAR ÇALIŞMALARI

### 3.2.1. Morfolojik İnceleme

Toplanan larvaların mikroskopik incelemesi Olympus SZ11 marka ve model alttan aydınlatmalı stereo mikroskopta yapılmış ve Olympus DP60 mikroskop kamerasında görüntüler kaydedilmiştir.

### 3.2.2. Moleküler İnceleme

#### 3.2.2.1. Genomik DNA Ekstraksiyonu

Simuliid türlerinin moleküler klasifikasyonu ve filogenisi için seçilen odaklardan toplanan larvalardan genomik DNA ekstraksiyonu, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda bulunan ekstraksiyon ünitesinde yapılmıştır. Simuliid larvalarının her biri önce steril DNA'se RNA'se free mikrosantrifüj tüplerine alınmış ve üzerlerine sıvı azot ilave edilerek steril pestle ile toz haline getirilmiştir. Daha sonra tüplerin üzerine 25µl proteinase K ve 200µl Tissue Lysis Buffer (Bioneer) ilave edilerek, 60°C'de 1 gece su banyosunda tutulmuştur. Daha sonra tüpler ultrasantrifüje yerleştirilerek 14.000 rpm'de 1dk santrifüj edilmiştir. Tüplerden santrifüj sonrası 200µl alınarak tam otomatik DNA/RNA ekstraksiyon cihazında (Bioneer Exiprep™ 16) genomik DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir.

Final elüsyon 50µl olacak şekilde ayarlanmış ve elde edilen genomik DNA miktarları Nanodrop spektrofotometre (ACT Gene ASP-3700) kullanılarak ölçülmüştür. Genomik DNA ekstraktları kullanılabilecek -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.2.2.2 DNA amplifikasyonu ve Elektroforez

Larvalardan elde edilen genomik DNA ekstraktları ribosomal internal transcript spacer 2 (ITS-2) ve 28S gen bölgesinin yaklaşık 430 bp gen fragmentini amplifiye eden ITS2F (5'-TTGAACGCATATCGCACTTCTTGC-3') ve ITS2R (5'-CCTTATTAATATGCTTAAATTCAGGG-3') (35); mitokondrial cytochrome oxidase I (mt-COI) gen bölgesinin yaklaşık 658 bp gen fragmentini amplifiye eden LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGAT ATTGG-3') ve HCO2198 (5'-TAAACTTCAGG GTGACCAAAAATCA-3') (34) primerler ile PCR tabii tutulmuştur.

Reaksiyon karışımı her iki primer seti için de 25µl final konsantrasyonda hazırlanmıştır. Ribosomal ITS2 gen bölgesi ve mt-COI gen bölgesi için ilgili kaynaklarda (46, 47) belirtilen protokoller modifiye edilerek reaksiyon karışımı: 10X PCR buffer, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM her bir dNTP, 1.3 µM her bir primer, 2.3U Taq DNA polymerase ve 50ng template DNA kullanılmıştır.

Laminar kabin içerisinde steril şartlarda hazırlanan PCR reaksiyon karışımı 0,5 ml'lik DNA'se ve RNA'se free ependorf tüpleri içerisinde konulmuştur. Tüpler thermalcykler cihazına (Thermo Hybaid) yerleştirilerek amplifikasyona tabii tutulmuştur. Ribosomal ITS-2 gen bölgesinin amplifikasyonu için gerekli PCR şartları aşağıda verilmiştir (46).

1. 95 °C 5dk	1 siklus
2. 94 °C 1dk	} 35 siklus
3. 58 °C 1dk	
4. 72 °C 2dk	
5. 72 °C 10dk	1 siklus

Mt-COI gen bölgesinin amplifikasyonu için uygulanan termal profil aşağıda gösterilmiştir (47).

1. 96 °C 1dk	1 siklus
2. 94 °C 1dk	} 35 siklus
3. 55 °C 1dk	
4. 72 °C 1.5dk	
5. 72 °C 10dk	1 siklus

PCR analizlerinde herhangi bir kontaminasyonun meydana gelip gelmediğini belirlemek amacı ile steril deiyonize su negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

PCR ile amplifikasyon sonucu elde edilen ampikonların görüntülenmesi amacıyla %1,5'lik agaroz jel hazırlanmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinin her birinden 10 µl alınıp 90 V'da 50 dk, jel elektroforeze tabii tutulmuştur. Sonuçlar CLP Jel Dökümantasyon Sistemi ve Gene Snap from Syngene analiz programı (UVP INC Uplant, CA ) ile görüntülenip analiz edilmiştir.

### 3.2.2.3. Sekanslama ve Filogenetik Analiz

Larvaların ribosomal ITS-2 ve mt-COI gen bölgelerinden elde edilen PCR ürünleri, High Pure PCR Product Purification Kit (Roche) kullanılarak jel pürifiye edilmiştir. Pürifikasyon sonrası örnekler ITS-2 gen bölgesinin analizi için ITS2F ve ITS2R, mt-COI gen bölgesi için LCO1490 ve HCO2198 primerleri ile çift yönlü olarak sekanslanmıştır. Çift yönlü DNA dizisi ortaya konan örneklerin BioEdit Sequence Alignment (48) ve Geneious 5.5.5 (49) yazılımları ile pairwise alignmentları yapılarak final dizilim elde edilmiştir. Elde edilen sekansların blastn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) analizleri yapıldıktan sonra Dünyada GenBank'a kayıtlı diğer benzer izolatlar ile Mega 5.0 ve Geneious 5.5.5 (49) yazılımlarında (50) Multiple alignmentları yapılarak filogenileri araştırılmış ve moleküler karakterizasyonları ortaya konmuştur. Filogenetik ağacın oluşturulmasında Neighbor Joining metodu model olarak ise Tamura-Nei modeli kullanılmıştır. Resampling metodu Bootstrap, replikasyon sayısı 1000 belirlenmiştir.



## 4. BULGULAR

### 4.1. SIMULIID ÖRNEKLEMESİ YAPILAN İSTASYONLARIN ÖZELLİKLERİ

**Nehir Debisi:** Kızılırmak nehrinin mücadele yapılan bölgedeki debisi mevsime, tarımsal faaliyetlere ve Bayramhacılı Barajının elektrik üretim programına göre değişiklik göstermektedir. Örnekleme zamanında su debisi A, B ve C istasyonları için sırasıyla 130, 135, 140 metreküp/saniye ölçülmüştür

**Nehir Suyu Sıcaklığı:** Araştırma yöresinde nehir suyu sıcaklıkları mevsime ve ısının ölçüldüğü bölgeye göre değişiklik göstermektedir. Örnekleme zamanında su sıcaklığı A, B ve C istasyonları için sırasıyla 8,3, 8,7 ve 9,1 °C ölçülmüştür.

**Ph Değerleri:** Çalışma yapılan bölgede Ph değerleri A, B ve C istasyonları için sırasıyla 7,4, 7,5 ve 7,9 olarak ölçülmüştür.

**O<sub>2</sub> Değerleri:** Çalışma yapılan bölgede Ph değerleri A, B ve C istasyonları için sırasıyla 5,2, 7,1 ve 6,5 olarak ölçülmüştür.

Örnekleme alanlarına ve simullid gelişme dönemlerine ait bazı formların görüntüleri Şekil 4.1-4.3'de verilmiştir.





Şekil 4.1. *Simulium* yumurtaları ( Orijinal )



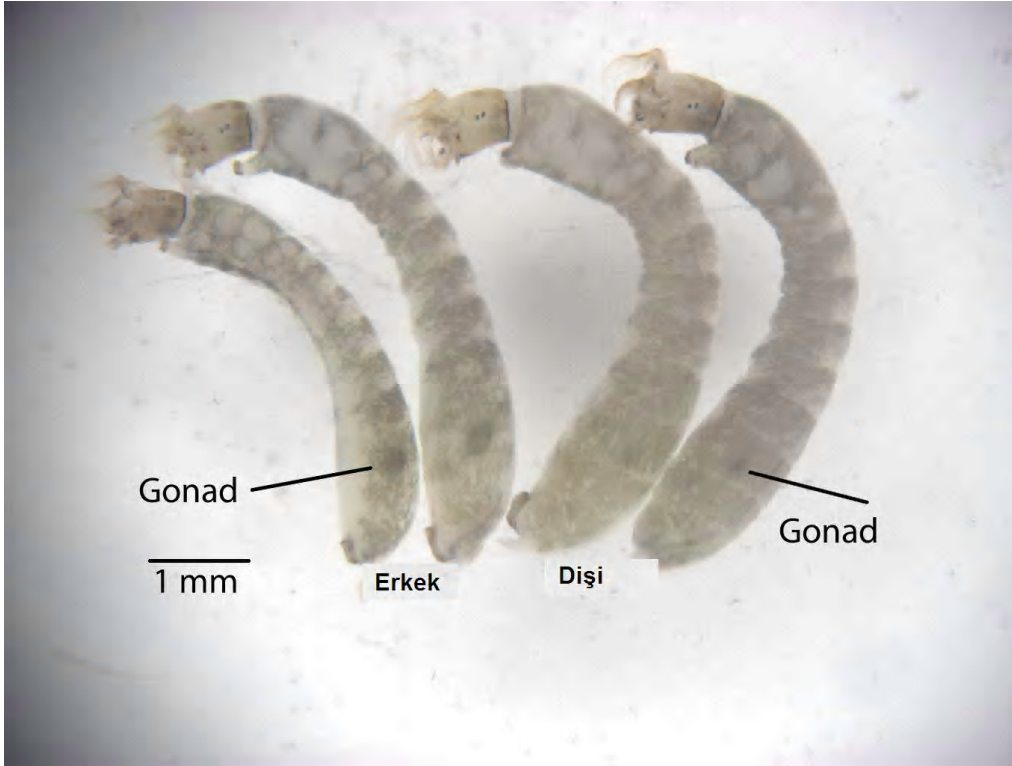
Şekil 4.2. Su bitkisine tutunmuş *Simulium* sp. Larvaları ( Orijinal )



Şekil 4.3. *Simulium* larvası ( Orijinal )

#### 4.2. MORFOLOJİK ANALİZ SONUÇLARI

İncelenen larvalarda vücudun baş, toraks ve abdomen olmak üzere üç kısımdan oluştuğu ve sınırları çok belirgin olmayan 11 segmentten meydana geldiği görülmüştür (Şekil 4.4). Başın geniş olduğu ve belirgin bir biçimde vücuttan ayrıldığı, başta iyi gelişmiş bir çift anten, ağız parçaları ve bir çift sefalik fan bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.4. *Simulium* sp. larvaları (Orijinal)



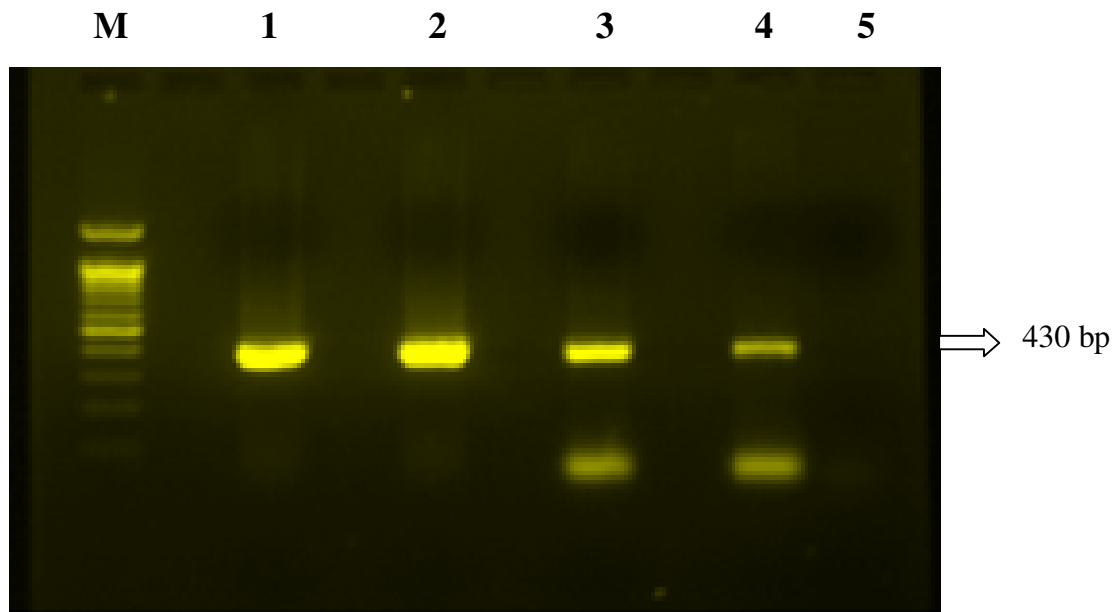
Şekil 4.5. *Simulium* sp. larvası (Orijinal)

Vücutun göğüs bölgesi kalın olup ventral tarafında, ucunda kancalardan oluşmuş bir halkanın bulunduğu bir adet proleg gözlenmiştir. Abdomen sekiz segmentten meydana gelmiş olup ilk kısmının daha ince ve sonuna doğru tekrar genişlediği görülmüştür. Vücutun sonunda çok sayıda kanca içeren bir halka (posterior proleg) görülmüştür. Anal açıklığın dorsal kısmında “rektal organ” ya da “anal solungaçlar” adı verilen çıkıntılar yer aldığı görülmüştür. Baş kapsülünde post genal yarık, sefalik apotom üzerinde ise benek şeklinde lekeler ve sefalik fanların varlığı dikkati çekmiştir. Larvaların göğüs bölgesinde, solungaç histoblastları (pupal solunum filamentleri) toraksın iki yanında dış vücut örtüsünün altında kıvrılmış bir şekilde tespit edilmiştir.

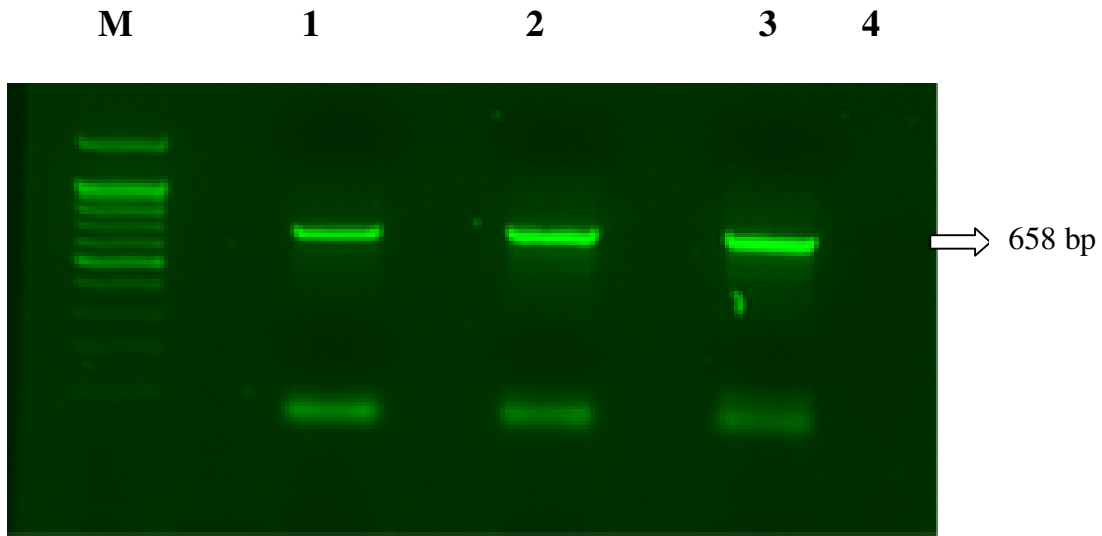
### 4.3. MOLEKÜLER ANALİZ SONUÇLARI

#### 4.3.1. PCR Sonuçları

İncelemesi yapılan 3 bölgeden toplanan toplam 150 larvanın ribosomal ITS-2 ve 28S ile mt-COI gen bölgelerinin spesifik primerler ile parsiyel amplifikasyonları sonucu ürünlerin jel agarozda görünüşleri Şekil 4.6’ ve Şekil 4.7’de gösterilmiştir.

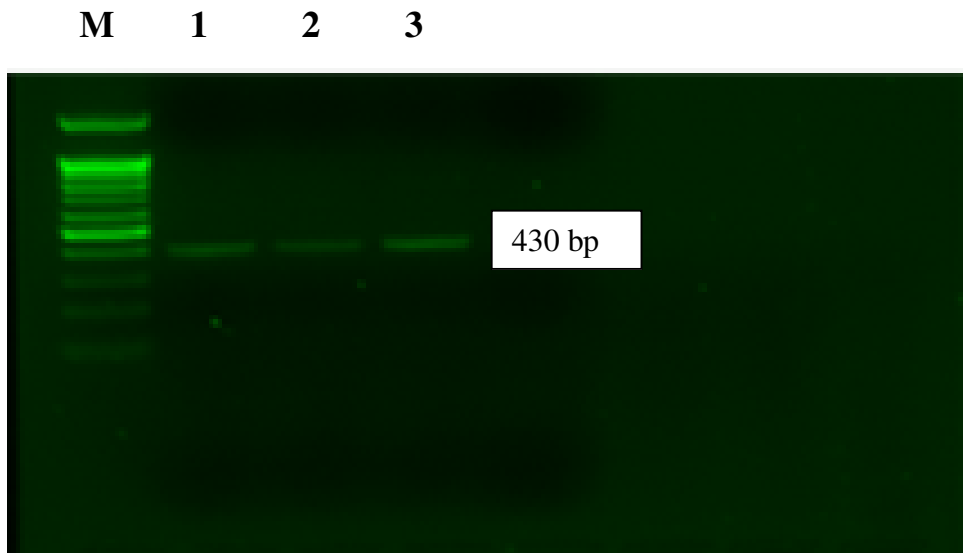


**Şekil 4.6.** Simuliid larvalarının complete ITS-2 ve parsiyel 28S gen bölgesini amplifiye eden ITS2F ve ITS2R primerleri ile PCR sonucu elde edilen pozitif amplikonların jel elektroforezde görünümü M: Marker; 1,2,3,4: Pozitif örnekler; 5: Negatif kontrol

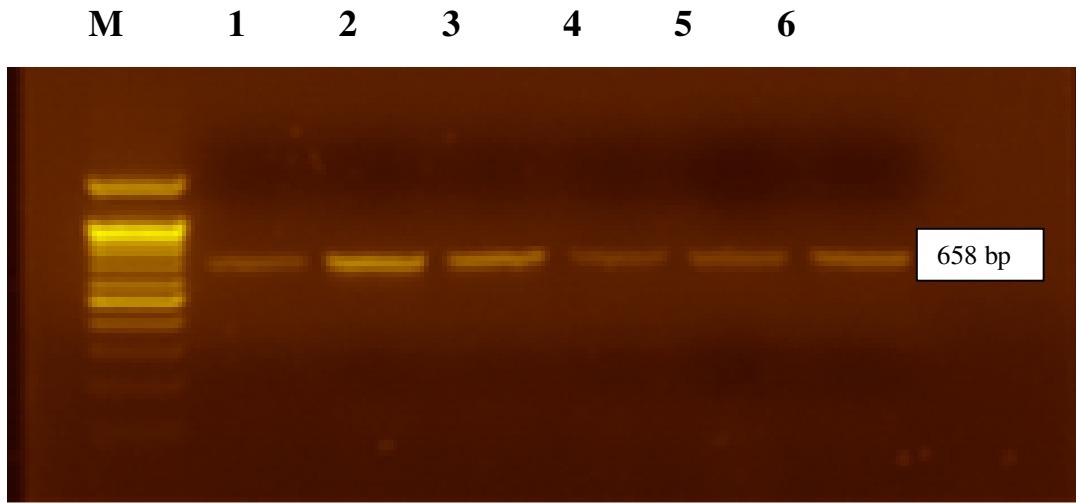


**Şekil 4.7.** Simuliid larvalarının parsiyel COI gen bölgesini amplifiye eden LCO1490 ve HCO2198 primerleri ile PCR sonucu elde edilen pozitif ampliconların jel elektroforezde görünümü M: Marker; 1,2,3: Pozitif örnekler; 4: Negatif kontrol

Elde edilen ampliconların jel pürifikasyonları sonrası DNA miktarları ölçülmüş ve uygun konsantrasyonda olanlardan A bölgesi için 3, B ve C bölgeleri için ise 2'şer amplicon sekans analizi için ayrılmıştır. Jel pürifiye ampliconların agaroz jeldeki görünümleri Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da verilmiştir.



**Şekil 4.8.** Simuliid larvalarının complete ITS2 ve parsiyel 28S ribozomal gen bölgesinin amplifikasyonu sonrası jel pürifiye edilen örneklerin jel elektroforezde görünümü. M: Marker; 1,2,3: Pozitif örnekler



**Şekil 4.9.** Simuliid larvalarının parsiyel mt-COI gen bölgesinin amplifikasyonu sonrası jel pürifiye edilen örneklerin jel elektroforezde görünümü. M: Marker; 1,2,3,4,5, 6: Pozitif örnekler

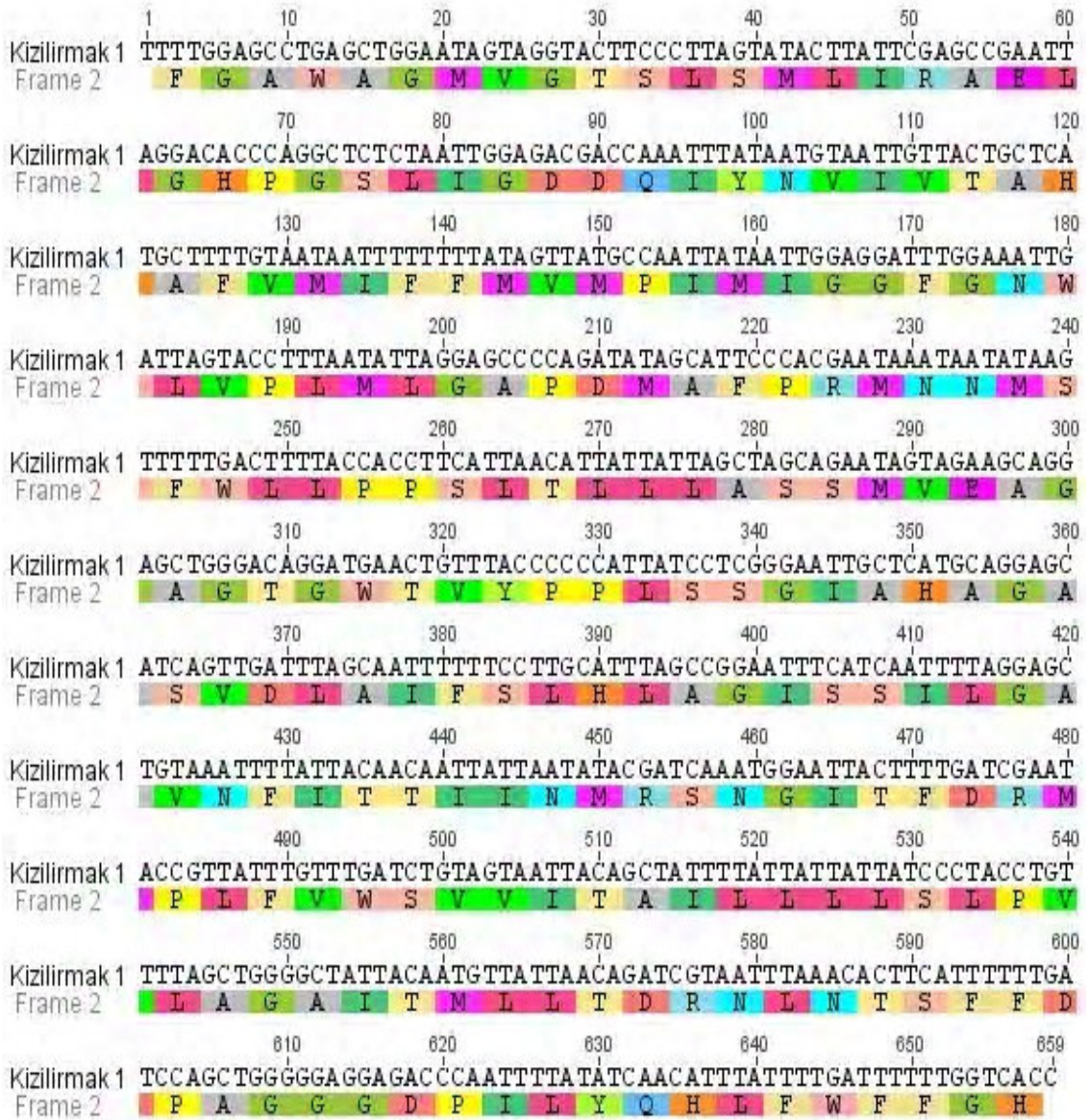
#### 4.3.2. Sekans Analizi Sonuçları

Sekansları tamamlanan ve GenBank kayıtları yapılan izolatlara ait DNA dizilerinin, izolasyon kaynağı ve yeri, incelenen gen bölgesi ile GenBank aksesyon numaraları Tablo 4.1'de verilmiştir. İzolatların mt-COI gen bölgesine göre nükleotid ve amino asit dizileri Şekil 4.10-4.16'de, ribozomal ITS-2 ve 28S gen bölgesine göre nükleotid dizileri ise Şekil 4.17-4.23'de verilmiştir.

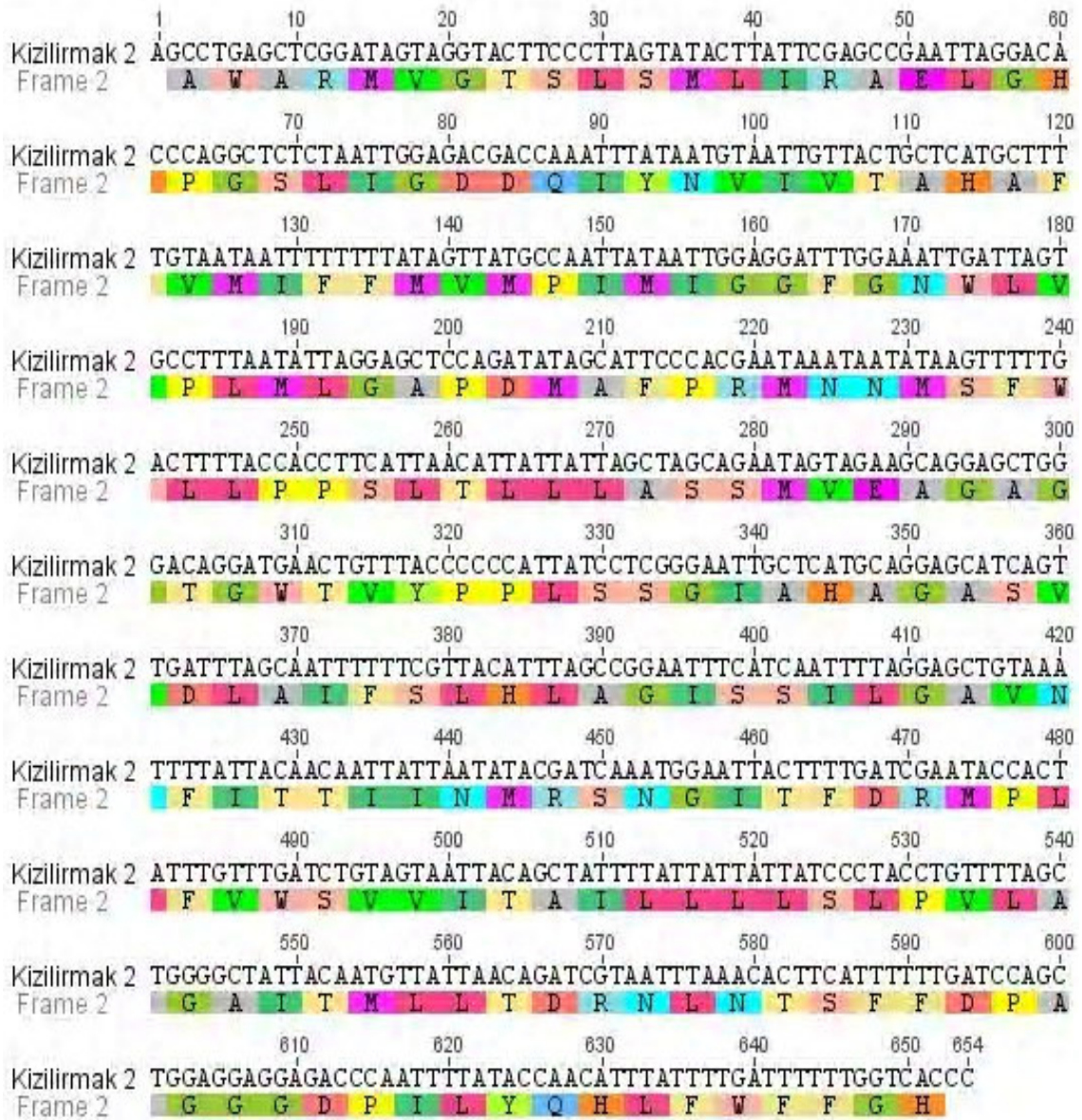
**Tablo 4.1.** GenBank kayıtları yapılan *Simulium* sp. izolatların incelenen gen bölgesi, izolasyon yeri ve kaynağı ile GenBank aksesyon numaraları

İzolat	İzolasyon Yeri	DNA İzolasyon kaynağı	Gen Bölgesi	Aksesyon Numarası
Kizilirmak 1	Ürgüp	Larva	Ribozomal ITS-2, 28S	JQ066783
			Mt-COI	JQ030883
Kizilirmak 2	Ürgüp	Larva	ITS-2, 28S	JQ066784
			Mt-COI	JQ034308
Kizilirmak 3	Ürgüp	Larva	ITS-2, 28S	JQ066785
			Mt-COI	JQ034313
Kizilirmak 4	Gülşehir	Larva	ITS-2, 28S	JQ066786
			Mt-COI	JQ034309
Kizilirmak 5	Gülşehir	Larva	ITS-2, 28S	JQ066787
			Mt-COI	JQ034310
Kizilirmak 6	Gülşehir	Larva	ITS-2, 28S	JQ066788
			Mt-COI	JQ034311
Kizilirmak 7	Gülşehir	Larva	ITS-2, 28S	JQ066789
			Mt-COI	JQ034312



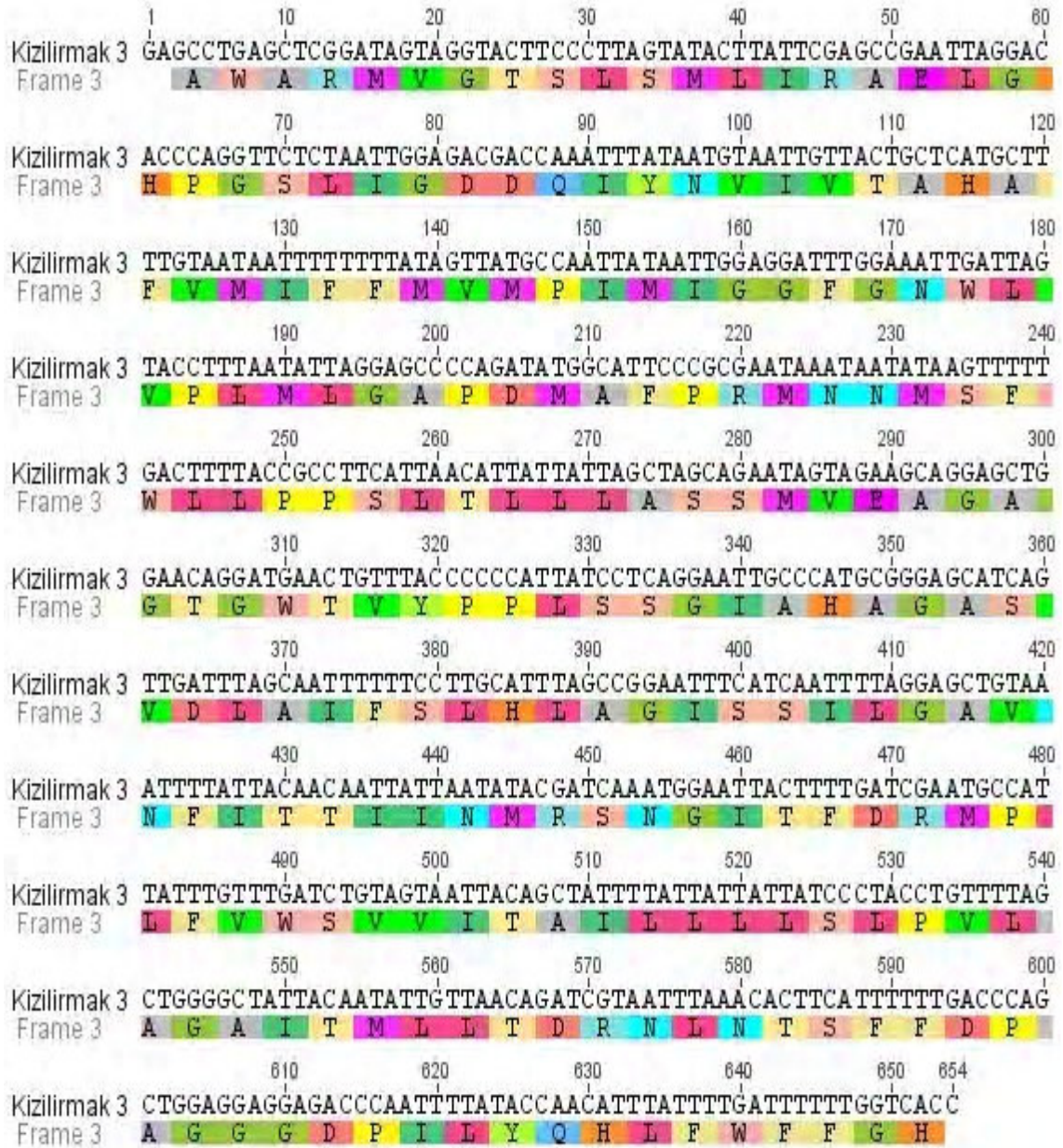


Şekil 4.10. Kizilirmak 1 izolatının parsiyel mt-COI nükleotid ve aminoasit sekansları (JQ030883)

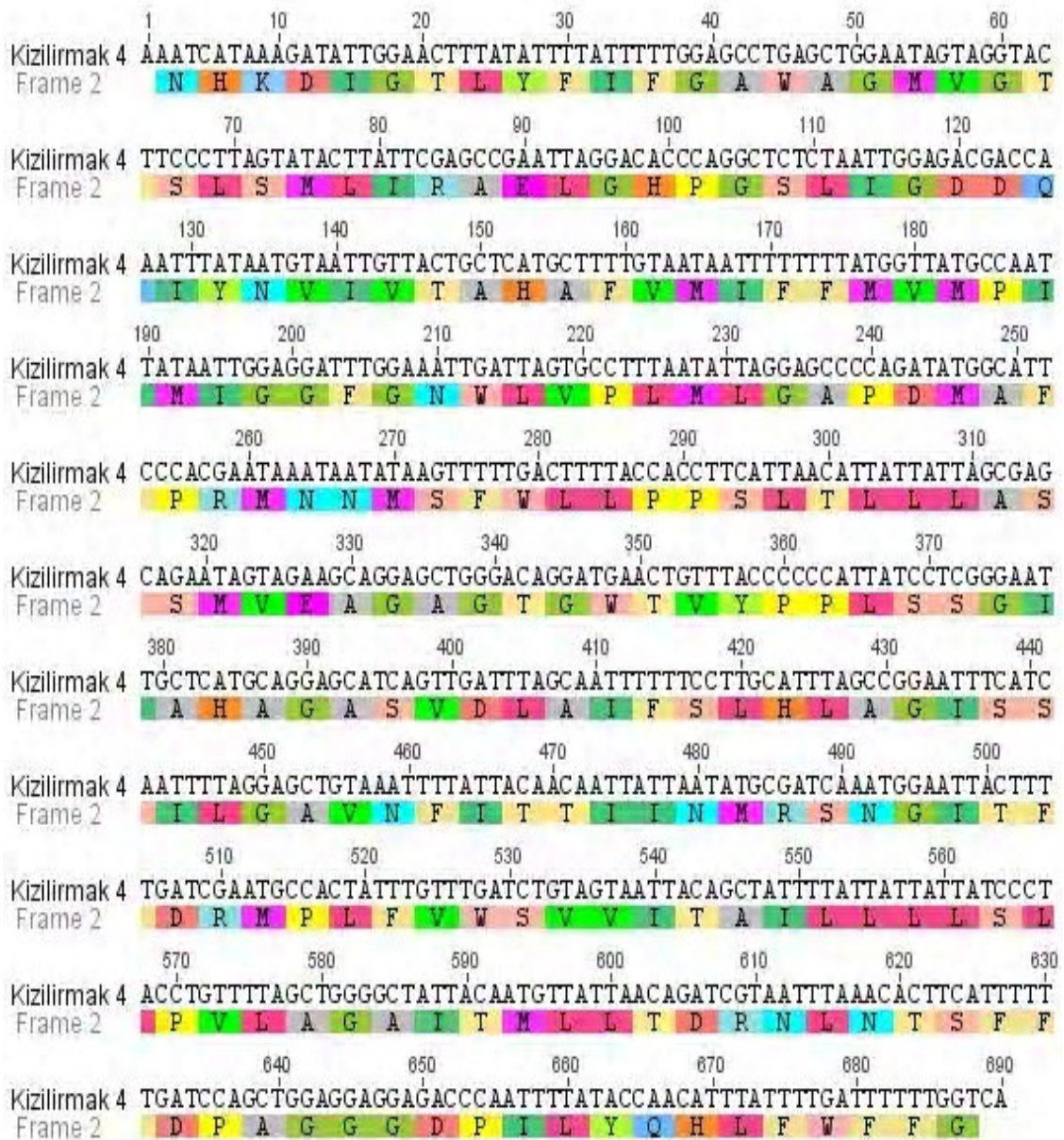


Şekil 4.11. Kizilirmak 2 izolatının parsiyel mt-COI nükleotid ve aminoasit sekansları (JQ034308)



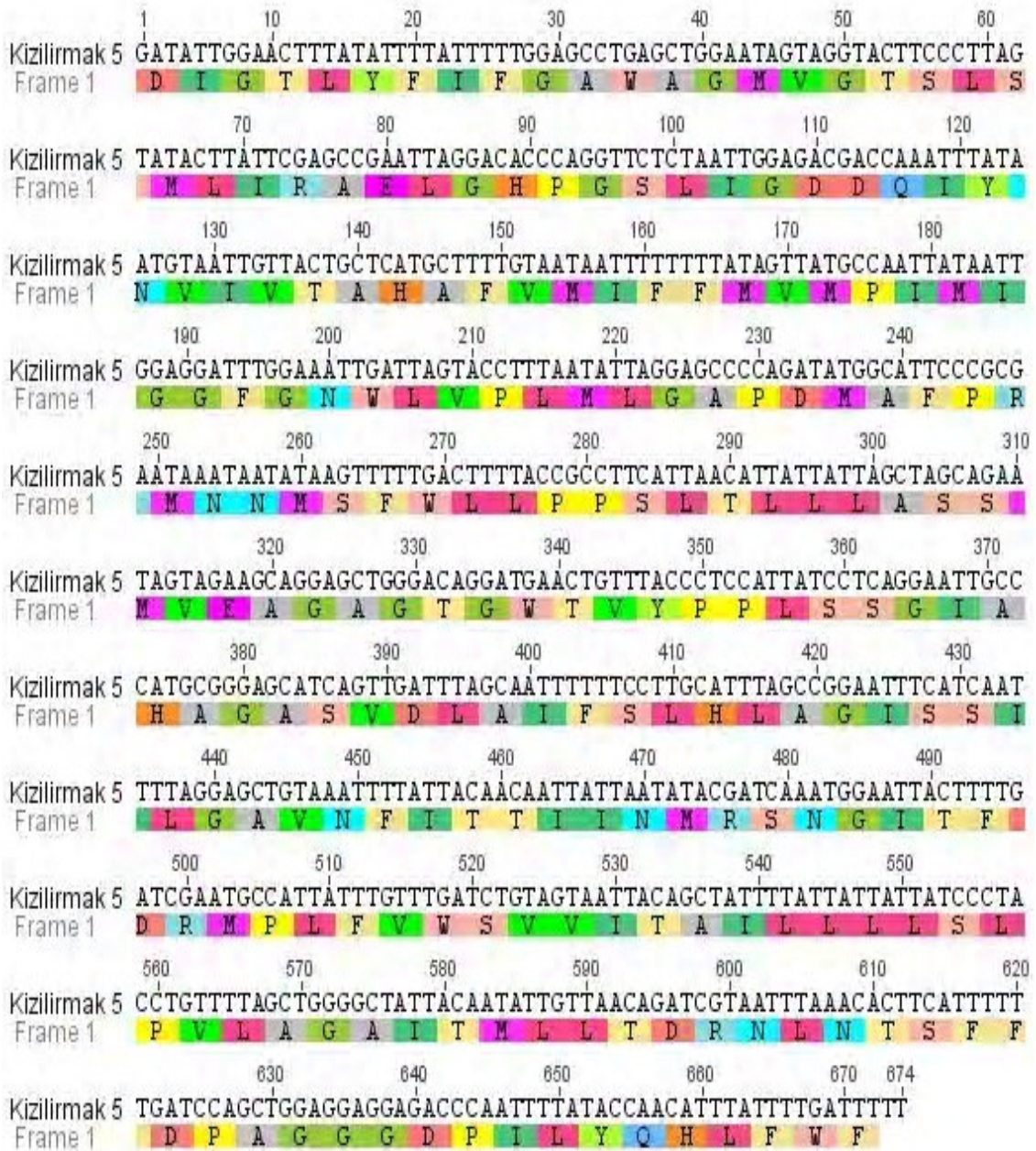


**Şekil 4.12.** Kizilirmak 3 izolatının parsiyel mt-COI nükleotid ve aminoasit sekansları (JQ034313)

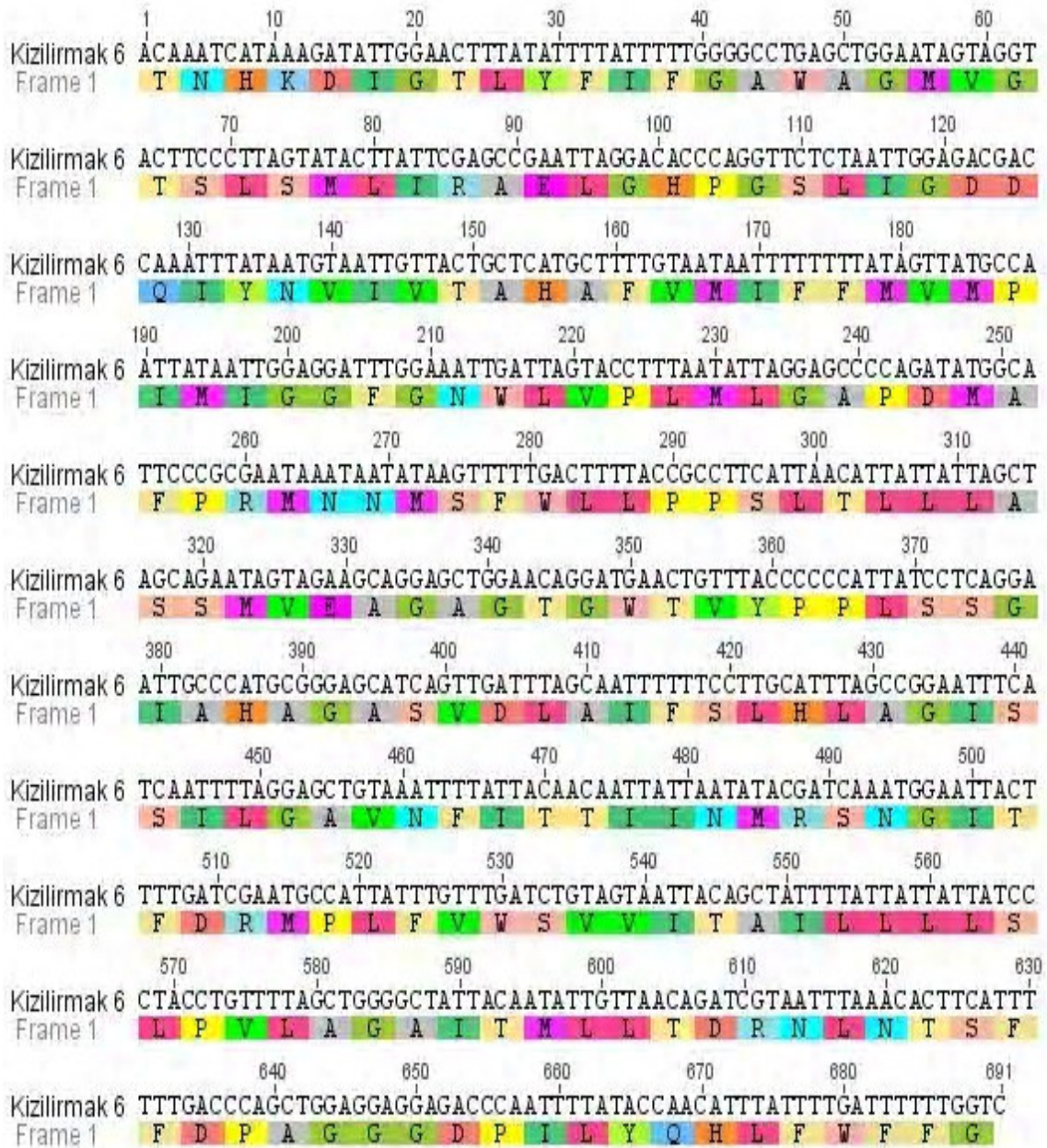


Şekil 4.13. Kizilirmak 4 izolatının parsiyel mt-COI nükleotid ve aminoasit sekansları (JQ034309)



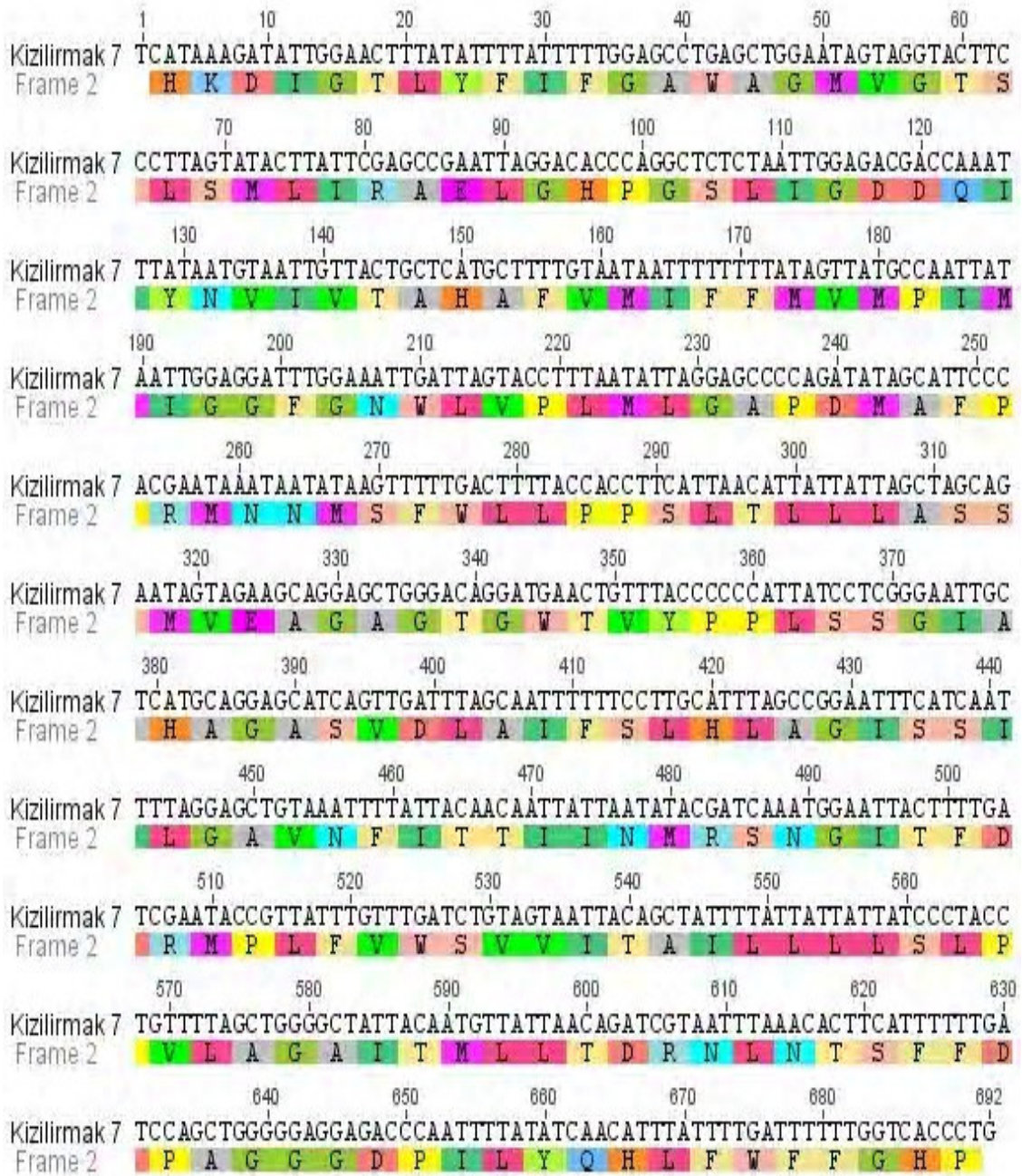


Şekil 4.14. Kizilirmak 5 izolatının parsiyel mt-COI nükleotid ve aminoasit sekansları (JQ034310)



Şekil 4.15. Kizilirmak 6 izolatının parsiyel mt-COI nükleotid ve aminoasit sekanları (JQ034311)





**Şekil 4.16.** Kizilirmak 7 izolatının parsiyel mt-COI nükleotid ve aminoasit sekansları (JQ034312)



**Şekil 4.17.** Kizilirmak 1 izolatının ribozomal complete ITS-2 ve parsiyel 28S nükleotid sekansı (JQ066783)



**Şekil 4.18.** Kizilirmak 2 izolatının parsiyel ribozomal complete ITS-2 ve parsiyel 28S nükleotid sekansı (JQ066784)





**Şekil 4.19.** Kizilirmak 3 izolatının parsiyel ribozomal complete ITS-2 ve parsiyel 28S nükleotid sekansı (JQ066785)



**Şekil 4.20.** Kizilirmak 4 izolatının parsiyel ribozomal complete ITS-2 ve parsiyel 28S nükleotid sekansı (JQ066786)



**Şekil 4.21.** Kizilirmak 5 izolatının parsiyel ribozomal complete ITS-2 ve parsiyel 28S nükleotid sekansı (JQ066787)



**Şekil 4.22.** Kizilirmak 6 izolatının parsiyel ribozomal complete ITS-2 ve parsiyel 28S nükleotid sekansı (JQ066788)





Şekil 4.23. Kizilirmak 7 izolatının parsiyel ribozomal complete ITS-2 ve parsiyel 28S nükleotid sekansı (JQ066789)

#### 4.4. FİLOGENETİK ANALİZ SONUÇLARI

Araştırma yöresinde elde edilen simuliid izolatlarıyla mt-COI gen bölgesi yönünden blastn kıyaslaması yapılan ve Multiple alignmentta dahil edilen Dünya'daki diğer bazı *Simulium* izolatlarının aksesyon numaraları ve izolatlara ait bilgiler GenBank'tan alınarak Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.2.** mt-COI gen bölgesi için dünyadan Multiple alignment'a dahil edilen diğer bazı *Simulium* izolatlarının aksesyon numaraları ve izolatlara ait bilgiler

İzolat	Orijin	DNA izolasyon kaynağı	Türler	Aksesyon Numarası
ACBSimNT11d3	Kanada	Larva	<i>S. vittatum</i>	FJ524821
ACBSimMN6c3	Kanada	Larva	<i>S. vittatum</i>	FJ524825
ACBSimBC9b1	Kanada	Larva	<i>S. vittatum</i>	FJ524827
A1NemunasI	Litvanya	Pupa	<i>S. equinum</i>	GU203456
B10Dubysa	Litvanya	Pupa	<i>S. equinum</i>	GU203457
G2Ukraina2	Ukrayna	Pupa	<i>S. equinum</i>	GU203462
K1VilniusI	Litvanya	Ergin	<i>S. equinum</i>	GU203464
H10Virinta	Litvanya	Pupa	<i>S. equinum</i>	GU203465
A10UlaII	Litvanya	Pupa	<i>S. lineatum</i>	GU203467
B1Turkey	Türkiye	Pupa	<i>S. lineatum</i>	GU203468
C2 Turkey	Türkiye	Pupa	<i>S. lineatum</i>	GU203472
BB4NemunasIII	Litvanya	Pupa	<i>S. lineatum</i>	GU203470
C1Vilnia	Litvanya	Pupa	<i>S. lineatum</i>	GU203471
E9Ukraina	Ukrayna	Pupa	<i>S. lineatum</i>	GU203473
M3UlaI	Litvanya	Pupa	<i>S. lineatum</i>	GU203474
AAA4121	Amerika	Larva	<i>Simulium sp.</i>	GU682350
AAV2391	Amerika	Larva	<i>Simulium sp.</i>	JN582249

Araştırma yöresinde nükleotid dizileri ortaya konan *Simulium sp.* izolatlar ile Dünyadan Multiple alignment'a dahil edilen diğer *Simulium* izolatlarının parsiyel mt-COI gen bölgesine göre nükleotid kompozisyonları Tablo 4.3'de, pairwise alignmentları ise Şekil 4.24'de verilmiştir.

**Tablo 4.3.** Multiple alignmentları yapılan pozitif izolatlar ve Dünyadan diğer bazı izolatların nükleotid kompozisyonları

İzolat	T (%)	C (%)	A (%)	G (%)	G+C (%)	A+T (%)	Toplam nükleotid sayısı
Kizilirmak 1	37,2	16,5	29,1	17,1	33,6	66,3	659,0
Kizilirmak 2	36,7	17,0	29,5	16,8	33,8	66,2	654,0
Kizilirmak 3	36,5	17,1	29,1	17,3	34,4	65,6	654,0
Kizilirmak 4	37,1	16,1	29,4	17,4	33,5	66,5	690,0
Kizilirmak 5	37,8	15,9	29,1	17,2	33,1	66,9	674,0
Kizilirmak 6	37,2	16,2	29,5	17,1	33,3	66,7	691,0
Kizilirmak 7	37,6	16,2	29,3	16,9	33,1	66,9	692,0
ACBSimNT11d3	37,6	17,2	29,3	15,9	33,1	66,9	615,0
ACBSimMN6c3	37,7	17,1	29,3	15,9	33,0	67,0	615,0
ACBSimBC9b1	37,6	17,2	29,3	15,9	33,1	66,9	615,0
A1NemunasI	36,9	16,8	29,3	17,0	33,8	66,2	642,0
B10Dubysa	37,2	16,6	30,0	16,2	32,8	67,2	631,0
G2Ukraina2	37,0	16,5	29,8	16,7	33,2	66,8	635,0
K1VilniusI	36,6	16,9	29,6	16,9	33,8	66,2	639,0
H10Virinta	37,4	16,5	29,3	16,8	33,3	66,7	631,0
A10UlaII	35,0	19,5	27,6	18,0	37,5	62,6	678,0
B1Turkey	35,0	19,5	27,5	18,1	37,6	62,5	658,0
C2 Turkey	34,3	19,9	27,9	17,9	37,8	62,2	653,0
BB4NemunasIII	35,1	19,2	27,7	18,0	37,2	62,8	667,0
C1Vilnia	34,6	19,6	27,5	18,3	37,9	62,1	654,0
E9Ukraina	34,2	19,5	28,5	17,8	37,3	62,7	663,0
M3UlaI	35,0	19,7	28,2	17,1	36,8	63,2	645,0
AAA4121	38,1	16,9	29,2	15,8	32,7	67,3	658,0
AAV2391	37,8	17,3	28,1	16,7	34,0	65,9	658,0

	F524821	F524825	F524827	GJ203455	GJ203457	GJ203462	GJ203464	GJ203465	GJ203467	GJ203468	GJ203470	GJ203471	GJ203472	GJ203473	GJ203474	JMS2249	Kızılmak.1	Kızılmak.2	Kızılmak.3	Kızılmak.4	Kızılmak.5	Kızılmak.6
F524821	99.5%	100%	89.6%	89.1%	90.1%	90.2%	89.1%	85.7%	85.7%	85.7%	85.7%	85.7%	84.6%	85.7%	85.5%	99.2%	96.1%	89.1%	89.3%	89.6%	88.9%	89.1%
F524825	99.5%		89.4%	88.9%	90.2%	90.1%	88.9%	85.5%	85.5%	85.5%	85.5%	85.5%	84.4%	85.5%	85.3%	98.7%	95.9%	89.3%	89.1%	89.4%	88.8%	89.3%
F524827	100%	99.5%		89.1%	90.1%	90.2%	89.1%	85.7%	85.7%	85.7%	85.7%	85.7%	84.6%	85.7%	85.5%	99.2%	96.1%	89.1%	89.3%	89.6%	88.9%	89.1%
GJ203456	89.6%	89.4%	89.6%	98.1%	97.0%	97.0%	94.5%	88.6%	88.6%	88.6%	88.3%	88.3%	87.7%	88.9%	88.6%	89.4%	88.1%	97.6%	97.2%	100%	97.6%	99.5%
GJ203457	89.1%	88.9%	89.1%	98.1%	97.5%	97.6%	96.3%	88.0%	88.0%	88.0%	87.8%	87.8%	87.2%	88.0%	88.2%	89.0%	88.1%	98.3%	97.9%	98.1%	97.6%	98.3%
GJ203462	90.1%	90.2%	90.1%	97.0%		99.8%	96.8%	89.3%	89.3%	89.1%	89.3%	88.8%	88.0%	89.3%	89.1%	89.5%	88.4%	97.3%	97.2%	97.0%	96.7%	97.0%
GJ203464	90.2%	90.1%	90.2%	97.0%			97.0%	89.2%	89.2%	89.2%	89.5%	89.0%	88.2%	89.4%	89.0%	89.7%	88.6%	97.2%	97.2%	97.2%	96.9%	97.2%
GJ203465	89.1%	88.9%	89.1%	99.5%	96.8%	97.0%		88.3%	88.3%	88.3%	88.1%	88.1%	87.5%	88.3%	88.4%	88.9%	87.6%	97.8%	97.5%	99.5%	97.8%	99.7%
GJ203467	85.7%	85.5%	85.7%	88.6%	88.0%	89.3%	89.2%	88.3%		99.8%	98.9%	98.9%	98.6%	99.1%	99.4%	85.4%	84.6%	88.5%	88.1%	88.5%	87.8%	88.1%
GJ203468	85.7%	85.5%	85.7%	88.6%	88.0%	89.1%	88.2%	88.3%	99.8%		98.9%	99.1%	98.8%	99.5%	99.2%	85.6%	84.9%	88.2%	87.8%	88.3%	87.7%	88.2%
GJ203470	85.7%	85.5%	85.7%	88.8%	88.0%	89.3%	89.5%	88.3%	98.9%	98.9%		99.5%	98.0%	98.8%	99.5%	84.7%	83.9%	88.3%	87.9%	88.4%	87.4%	88.4%
GJ203471	85.7%	85.5%	85.7%	88.3%	87.8%	88.8%	89.0%	88.1%	98.9%	99.1%	99.5%		97.9%	99.4%	99.0%	85.2%	84.4%	87.8%	87.4%	87.9%	87.2%	88.0%
GJ203472	84.6%	84.4%	84.6%	87.7%	87.2%	88.0%	88.2%	87.5%	98.6%	98.8%	98.0%	97.9%		98.3%	97.9%	84.6%	83.8%	87.3%	86.9%	87.4%	86.7%	87.3%
GJ203473	85.7%	85.5%	85.7%	88.9%	88.0%	89.3%	89.4%	88.3%	99.1%	99.5%	99.8%	99.4%	98.3%		98.8%	85.8%	84.7%	88.6%	88.0%	88.6%	88.3%	88.4%
GJ203474	85.5%	85.3%	85.5%	88.6%	88.2%	89.1%	89.0%	88.4%	99.4%	99.2%	99.5%	99.0%	97.9%	98.0%		85.9%	85.1%	88.8%	88.6%	88.8%	88.2%	88.8%
GJ682350	99.2%	98.7%	99.2%	89.4%	89.0%	89.5%	89.7%	88.9%	85.4%	85.6%	84.7%	85.2%	84.6%	85.8%	85.9%		96.7%	89.0%	89.0%	89.2%	88.6%	89.1%
JMS2249	96.1%	95.9%	96.1%	88.1%	88.4%	88.6%	87.6%	84.6%	84.6%	84.9%	83.9%	84.4%	83.8%	84.7%	85.1%	96.7%		88.3%	88.4%	87.9%	88.0%	88.4%
Kızılmak.1	89.1%	89.3%	89.1%	97.6%	97.3%	97.2%	97.8%	88.5%	88.5%	88.2%	88.3%	87.8%	87.3%	88.6%	88.8%	89.0%	88.3%		98.5%	97.4%	98.5%	97.6%
Kızılmak.2	89.3%	89.1%	89.3%	97.2%	97.2%	97.2%	97.5%	88.1%	88.1%	87.8%	87.9%	87.4%	86.9%	88.0%	88.6%	89.0%	88.4%	98.5%		97.4%	98.5%	97.2%
Kızılmak.3	89.6%	89.4%	89.6%	100%	97.0%	97.2%	99.5%	88.5%	88.5%	88.3%	88.4%	87.8%	87.4%	88.6%	88.8%	89.2%	87.9%	88.4%	87.9%	88.0%	87.8%	88.0%
Kızılmak.4	88.9%	88.8%	88.9%	97.6%	96.7%	96.9%	97.8%	87.8%	87.8%	87.7%	87.4%	87.2%	86.7%	88.0%	88.6%	88.6%	88.0%	98.5%	98.5%	97.4%		97.9%
Kızılmak.5	89.4%	89.3%	89.4%	99.5%	96.8%	97.0%	99.7%	88.1%	88.1%	88.2%	87.7%	88.0%	87.4%	88.3%	88.2%	89.2%	87.8%	97.2%	97.2%	99.2%	97.9%	99.4%
Kızılmak.6	89.6%	89.4%	89.6%	100%	97.0%	97.2%	99.5%	88.8%	88.8%	88.8%	88.4%	88.4%	87.7%	88.9%	88.7%	89.2%	88.0%	97.6%	97.6%	99.5%	97.7%	99.4%
Kızılmak.7	89.1%	89.3%	89.1%	97.3%	97.3%	96.9%	97.8%	88.5%	88.3%	88.3%	88.0%	87.8%	87.3%	88.4%	88.8%	89.1%	88.4%	100%	98.5%	97.4%	98.5%	97.7%

**Şekil 4.24.** Araştırma yöresinde GenBank'a kayıtları yapılan *Simulium* izolatlarının ve Dünyadan filogenetik analize dahil edilen diğer *Simulium* izolatların parsiyel mt-COI nükleotid dizilimlerinin pairwise analizleri







	180	170	180	190	200
1. FJ524821	GCACATGCTT	TTGTATAAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
2. FJ524825	GCACATGCTT	TTGTATAAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
3. FJ524827	GCACATGCTT	TTGTATAAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
4. GU203456	GCTCATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
5. GU203457	GCTCATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
6. GU203462	GCTCATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
7. GU203464	GCTCATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
8. GU203465	GCTCATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
9. GU203467	GCACATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
10. GU203468	GCACATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
11. GU203470	GCACATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
12. GU203471	GCACATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
13. GU203472	GCACATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
14. GU203473	GCACATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
15. GU203474	GCACATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
16. GU682350	GCACATGCTT	TTGTATAAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
17. JN582249	GCACATGCTT	TTGTATAAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
18. Kizilirmak 1	GCTCATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
19. Kizilirmak 2	GCTCATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
20. Kizilirmak 3	GCTCATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
21. Kizilirmak 4	GCTCATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
22. Kizilirmak 5	GCTCATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
23. Kizilirmak 6	GCTCATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG
24. Kizilirmak 7	GCTCATGCTT	TTGTAATAAT	TTTTTTTATA	GTTATACCA	TTATAAATTGG

	210	220	230	240	250
1. FJ524821	GGGATTTGGA	AATTGACTTG	TCCCTCTTAT	ATTAGGAGCC	CCCGATATGG
2. FJ524825	GGGATTTGGA	AATTGACTTG	TCCCTCTTAT	ATTAGGAGCC	CCCGATATGG
3. FJ524827	GGGATTTGGA	AATTGACTTG	TCCCTCTTAT	ATTAGGAGCC	CCCGATATGG
4. GU203456	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TACCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATGG
5. GU203457	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TACCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATAG
6. GU203462	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TACCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATGG
7. GU203464	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TACCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATGG
8. GU203465	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TACCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATGG
9. GU203467	TGGATTTGGA	AATGTGATTAG	TACCAATTAAT	ACTGGGAGCC	CCAGACATGG
10. GU203468	TGGATTTGGA	AATGTGATTAG	TACCAATTAAT	ACTGGGAGCC	CCAGACATGG
11. GU203470	TGGATTTGGA	AATGTGATTAG	TACCAATTAAT	ACTGGGAGCC	CCAGACATGG
12. GU203471	TGGATTTGGA	AATGTGATTAG	TACCAATTAAT	ACTGGGAGCC	CCAGACATGG
13. GU203472	TGGATTTGGA	AATGTGATTAG	TACCAATTAAT	ACTGGGAGCC	CCAGACATGG
14. GU203473	TGGATTTGGA	AATGTGATTAG	TACCAATTAAT	ACTGGGAGCC	CCAGACATGG
15. GU203474	TGGATTTGGA	AATGTGATTAG	TACCAATTAAT	ACTGGGAGCC	CCAGACATAG
16. GU682350	GGGATTTGGA	AATTGACTTG	TCCCTCTTAT	ATTAGGAGCC	CCCGATATAG
17. JN582249	AGGATTTGGA	AATTGACTTG	TCCCTCTTAT	ATTAGGAGCC	CCCGATATAG
18. Kizilirmak 1	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TACCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATAG
19. Kizilirmak 2	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TGCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATAG
20. Kizilirmak 3	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TACCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATGG
21. Kizilirmak 4	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TGCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATGG
22. Kizilirmak 5	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TACCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATGG
23. Kizilirmak 6	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TACCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATGG
24. Kizilirmak 7	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	TACCTTTAAT	ATTAGGAGCC	CCAGATATAG

	280	270	280	290	300
1. FJ524821	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GAATATTACC	ACCTTCATTA
2. FJ524825	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GAATATTACC	ACCTTCATTA
3. FJ524827	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GAATATTACC	ACCTTCATTA
4. GU203456	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	GCTTTCATTA
5. GU203457	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
6. GU203462	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
7. GU203464	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
8. GU203465	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
9. GU203467	CTTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
10. GU203468	CTTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
11. GU203470	CTTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
12. GU203471	CTTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
13. GU203472	CTTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
14. GU203473	CTTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
15. GU203474	CTTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
16. GU682350	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GAATATTACC	ACCTTCATTA
17. JN582249	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GAATATTACC	ACCTTCATTA
18. Kizilirmak 1	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
19. Kizilirmak 2	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
20. Kizilirmak 3	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
21. Kizilirmak 4	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
22. Kizilirmak 5	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
23. Kizilirmak 6	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA
24. Kizilirmak 7	CATTTCCCACG	AATAAAATAAT	ATAAGTTTTT	GACTTTTACC	ACCTTCATTA



	310	320	330	340	350
1. FJ524821	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	ATAGTAGAA	GCAGGGGCTG	GAACAGGTTG
2. FJ524825	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	ATAGTAGAA	GCAGGAGCTG	GAACAGGTTG
3. FJ524827	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	ATAGTAGAA	GCAGGGGCTG	GAACAGGTTG
4. GU203456	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	AATAGTAGAA	GCAGGAGCTG	GAACAGGATG
5. GU203457	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	AATAATAAA	GCAGGAGCTG	GGACAGGGTG
6. GU203462	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	AATAGTAGAA	GCAGGAGCTG	GGACAGGGTG
7. GU203464	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	AATAGTAGAA	GCAGGAGCTG	GGACAGGGTG
8. GU203465	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	AATAGTAGAA	GCAGGAGCTG	GGACAGGATG
9. GU203467	ACATTATTAT	TAGCTAGGAG	AATAGTGAA	GCAGGAGCTG	GGACGGTTG
10. GU203468	ACATTATTAT	TAGCTAGGAG	AATAGTGAA	GCAGGAGCTG	GAACGGTTG
11. GU203470	ACATTATTAT	TAGCTAGGAG	AATAGTGAA	GCAGGAGCTG	GAACGGTTG
12. GU203471	ACATTATTAT	TAGCTAGGAG	AATAGTGAA	GCAGGAGCTG	GAACGGTTG
13. GU203472	ACATTATTAT	TAGCTAGGAG	AATAGTGAA	GCAGGAGCTG	GAACGGTTG
14. GU203473	ACATTATTAT	TAGCTAGGAG	AATAGTGAA	GCAGGAGCTG	GAACGGTTG
15. GU203474	ACATTATTAT	TAGCTAGGAG	AATAGTGAA	GCAGGAGCTG	GAACGGTTG
16. GU682350	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	ATAGTAGAA	GCAGGGGCTG	GAACAGGTTG
17. JN582249	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	ATAGTAGAA	GCAGGAGCTG	GGACAGGTTG
18. Kizilirmak 1	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	AATAGTAGAA	GCAGGAGCTG	GGACAGGATG
19. Kizilirmak 2	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	AATAGTAGAA	GCAGGAGCTG	GGACAGGATG
20. Kizilirmak 3	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	AATAGTAGAA	GCAGGAGCTG	GGACAGGATG
21. Kizilirmak 4	ACATTATTAT	TAGCGAGCAG	AATAGTAGAA	GCAGGAGCTG	GGACAGGATG
22. Kizilirmak 5	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	AATAGTAGAA	GCAGGAGCTG	GGACAGGATG
23. Kizilirmak 6	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	AATAGTAGAA	GCAGGAGCTG	GAACAGGATG
24. Kizilirmak 7	ACATTATTAT	TAGCTAGCAG	AATAGTAGAA	GCAGGAGCTG	GGACAGGATG
	360	370	380	390	400
1. FJ524821	AACTGTTTTAC	CCCCCTTAT	CTTCAGGAAT	TGCATGCG	GGAGCCTCTG
2. FJ524825	AACTGTTTTAC	CCCCCTTAT	CTTCAGGAAT	TGCATGCG	GGAGCCTCTG
3. FJ524827	AACTGTTTTAC	CCCCCTTAT	CTTCAGGAAT	TGCATGCG	GGAGCCTCTG
4. GU203456	AACTGTTTTAC	CCCCCATTAT	CTTCAGGAAT	TGCCCATGCG	GGAGCATCAG
5. GU203457	AACTGTTTTAC	CCCCCATTAT	CTTCAGGAAT	TGCCCATGCA	GGAGCATCAG
6. GU203462	AACTGTTTTAC	CCCCCATTAT	CTTCAGGAAT	TGCCCATGCA	GGAGCATCGG
7. GU203464	AACTGTTTTAC	CCCCCATTAT	CTTCAGGAAT	TGCCCATGCG	GGAGCATCAG
8. GU203465	AACTGTTTTAC	CCCCCATTAT	CTTCAGGAAT	TGCCCATGCG	GGAGCATCAG
9. GU203467	GACAGTGTAC	CCCCCTTAT	CTTCAGGAAT	CGCCCAAGCA	GGGCGCTCTG
10. GU203468	GACAGTGTAC	CCCCCTTAT	CTTCAGGAAT	CGCCCAAGCA	GGGCGCTCTG
11. GU203470	GACAGTGTAC	CCCCCTTAT	CTTCAGGAAT	CGCCCAAGCA	GGGCGCTCTG
12. GU203471	GACAGTGTAC	CCCCCTTAT	CTTCAGGAAT	CGCCCAAGCA	GGGCGCTCTG
13. GU203472	GACAGTGTAC	CCCCCTTAT	CTTCAGGAAT	CGCCCAAGCA	GGGCGCTCTG
14. GU203473	GACAGTGTAC	CCCCCTTAT	CTTCAGGAAT	CGCCCAAGCA	GGGCGCTCTG
15. GU203474	GACAGTGTAC	CCCCCTTAT	CTTCAGGAAT	CGCCCAAGCA	GGGCGCTCTG
16. GU682350	AACTGTTTTAC	CCCCCTTAT	CTTCAGGAAT	TGCATGCG	GGAGCCTCTG
17. JN582249	AACTGTTTTAC	CCCCCTTAT	CTTCAGGAAT	TGCATGCG	GGAGCCTCTG
18. Kizilirmak 1	AACTGTTTTAC	CCCCCATTAT	CTTCAGGAAT	TGCATGCA	GGAGCATCAG
19. Kizilirmak 2	AACTGTTTTAC	CCCCCATTAT	CTTCAGGAAT	TGCATGCA	GGAGCATCAG
20. Kizilirmak 3	AACTGTTTTAC	CCCCCATTAT	CTTCAGGAAT	TGCCCATGCG	GGAGCATCAG
21. Kizilirmak 4	AACTGTTTTAC	CCCCCATTAT	CTTCAGGAAT	TGCATGCA	GGAGCATCAG
22. Kizilirmak 5	AACTGTTTTAC	CCCCCATTAT	CTTCAGGAAT	TGCCCATGCG	GGAGCATCAG
23. Kizilirmak 6	AACTGTTTTAC	CCCCCATTAT	CTTCAGGAAT	TGCCCATGCG	GGAGCATCAG
24. Kizilirmak 7	AACTGTTTTAC	CCCCCATTAT	CTTCAGGAAT	TGCATGCA	GGAGCATCAG
	410	420	430	440	450
1. FJ524821	TAGATTTAGC	ATTTTTTCA	CTTCATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
2. FJ524825	TAGATTTAGC	ATTTTTTCA	CTTCATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
3. FJ524827	TAGATTTAGC	ATTTTTTCA	CTTCATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
4. GU203456	TTGATTTAGC	AATTTTTTCC	TTGCATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
5. GU203457	TTGATTTAGC	AATTTTTTCC	TTGCATTTAG	CCGGGATTTT	ATCAATTTTA
6. GU203462	TTGATTTAGC	AATTTTTTCA	TTACATTTAG	CCGGGATTTT	ATCAATTTTA
7. GU203464	TTGATTTAGC	AATTTTTTCA	TTACATTTAG	CCGGGATTTT	ATCAATTTTA
8. GU203465	TTGATTTAGC	AATTTTTTCC	TTGCATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
9. GU203467	TTGACCTAGC	ATTTTTTTC	TTACATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
10. GU203468	TTGACCTAGC	ATTTTTTTC	TTACATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
11. GU203470	TTGACCTAGC	ATTTTTTTC	TTACATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
12. GU203471	TTGACCTAGC	ATTTTTTTC	TTACATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
13. GU203472	TTGACCTAGC	ATTTTTTTC	TTACATTTA	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
14. GU203473	TTGACCTAGC	ATTTTTTTC	TTACATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
15. GU203474	TTGACCTAGC	ATTTTTTTC	TTACATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
16. GU682350	TAGATTTAGC	ATTTTTTCA	CTTCATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
17. JN582249	TGATTTAGC	ATTTTTTTC	CTTCATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
18. Kizilirmak 1	TTGATTTAGC	AATTTTTTCC	TTGCATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
19. Kizilirmak 2	TTGATTTAGC	AATTTTTTCC	TTGCATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
20. Kizilirmak 3	TTGATTTAGC	AATTTTTTCC	TTGCATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
21. Kizilirmak 4	TTGATTTAGC	AATTTTTTCC	TTGCATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
22. Kizilirmak 5	TTGATTTAGC	AATTTTTTCC	TTGCATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
23. Kizilirmak 6	TTGATTTAGC	AATTTTTTCC	TTGCATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA
24. Kizilirmak 7	TTGATTTAGC	AATTTTTTCC	TTGCATTTAG	CCGGAATTTT	ATCAATTTTA



1. FJ524821	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
2. FJ524825	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
3. FJ524827	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
4. GU203456	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
5. GU203457	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
6. GU203462	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
7. GU203464	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
8. GU203465	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
9. GU203467	GGGGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
10. GU203468	GGGGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
11. GU203470	GGGGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
12. GU203471	GGGGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
13. GU203472	GGGGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
14. GU203473	GGGGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
15. GU203474	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
16. GU682350	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
17. JN582249	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
18. Kizilirmak 1	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
19. Kizilirmak 2	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
20. Kizilirmak 3	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
21. Kizilirmak 4	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
22. Kizilirmak 5	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
23. Kizilirmak 6	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
24. Kizilirmak 7	GGAGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAATTATT	AATATACGAT	CAAATGGAAAT
1. FJ524821	TACTTTTGAC	CGAATACCAT	TATTTGATATG	ATCTGTAGT	ATTACAGCAA
2. FJ524825	TACTTTTGAC	CGAATACCAT	TATTTGATATG	ATCTGTAGT	ATTACAGCAA
3. FJ524827	TACTTTTGAC	CGAATACCAT	TATTTGATATG	ATCTGTAGT	ATTACAGCAA
4. GU203456	TACTTTTGAT	CGAATGCCAT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
5. GU203457	TACTTTTGAT	CGAATACCAT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
6. GU203462	TACTTTTGAT	CGAATACCAT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
7. GU203464	TACTTTTGAT	CGAATACCAT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
8. GU203465	TACTTTTGAT	CGAATGCCAT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
9. GU203467	TACTTTTGAT	CGGATACCGT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
10. GU203468	TACTTTTGAT	CGGATACCGT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
11. GU203470	TACTTTTGAT	CGGATACCGT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
12. GU203471	TACTTTTGAT	CGGATACCGT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
13. GU203472	TACTTTTGAT	CGGATACCGT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
14. GU203473	TACTTTTGAT	CGGATACCGT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
15. GU203474	TACTTTTGAT	CGGATACCGT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
16. GU682350	TACTTTTGAC	CGAATACCAT	TATTTGATATG	ATCTGTAGT	ATTACAGCAA
17. JN582249	TACTTTTGAC	CGAATACCGT	TATTTGATATG	ATCTGTAGT	ATTACAGCAA
18. Kizilirmak 1	TACTTTTGAT	CGAATACCGT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
19. Kizilirmak 2	TACTTTTGAT	CGAATACCAT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
20. Kizilirmak 3	TACTTTTGAT	CGAATGCCAT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
21. Kizilirmak 4	TACTTTTGAT	CGAATGCCAT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
22. Kizilirmak 5	TACTTTTGAT	CGAATGCCAT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
23. Kizilirmak 6	TACTTTTGAT	CGAATGCCAT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
24. Kizilirmak 7	TACTTTTGAT	CGAATACCGT	TATTTGTTTG	ATCTGTAGTA	ATTACAGCTA
1. FJ524821	TTTTATTACT	TTTATCCTTA	CCAGTATTAG	CAGGAGCTAT	TACAATATTA
2. FJ524825	TTTTATTACT	TTTATCCTTA	CCAGTATTAG	CAGGAGCTAT	TACAATATTA
3. FJ524827	TTTTATTACT	TTTATCCTTA	CCAGTATTAG	CAGGAGCTAT	TACAATATTA
4. GU203456	TTTTATTATT	ATTATCCTTA	CCTGTTTTAG	CTGGGGCTAT	TACAATATTG
5. GU203457	TTTTATTATT	ATTATCCTTA	CCTGTTTTAG	CTGGAGCTAT	TACAATGTTA
6. GU203462	TTTTATTATT	ATTGTCCTTA	CCTGTTTTAG	CTGGAGCTAT	TACAATGTTA
7. GU203464	TTTTATTATT	ATTATCCTTA	CCTGTTTTAG	CTGGGGCTAT	TACAATATTG
8. GU203465	TTTTATTATT	ATTATCCTTA	CCTGTTTTAG	CTGGGGCTAT	TACAATATTG
9. GU203467	TTTTATTATT	ACTCTCCTTA	CCAGTTTTAG	CTGGGGCTAT	CACAATACTA
10. GU203468	TTTTATTATT	ACTCTCCTTA	CCAGTTTTAG	CTGGGGCTAT	CACAATACTA
11. GU203470	TTTTATTATT	ACTCTCCTTA	CCAGTTTTAG	CTGGGGCTAT	CACAATACTA
12. GU203471	TTTTATTATT	ACTCTCCTTA	CCAGTTTTAG	CTGGGGCTAT	CACAATACTA
13. GU203472	TTTTATTATT	ACTCTCCTTA	CCAGTTTTAG	CTGGGGCTAT	CACAATACTA
14. GU203473	TTTTATTATT	ACTCTCCTTA	CCAGTTTTAG	CTGGGGCTAT	CACAATACTA
15. GU203474	TTTTATTATT	ACTCTCCTTA	CCAGTTTTAG	CTGGGGCTAT	CACAATACTA
16. GU682350	TTTTATTACT	TTTATCCTTA	CCAGTATTAG	CAGGAGCTAT	TACAATATTA
17. JN582249	TTTTATTACT	TTTATCCTTA	CCAGTATTAG	CAGGAGCTAT	TACAATATTA
18. Kizilirmak 1	TTTTATTATT	ATTATCCTTA	CCTGTTTTAG	CTGGGGCTAT	TACAATGTTA
19. Kizilirmak 2	TTTTATTATT	ATTATCCTTA	CCTGTTTTAG	CTGGGGCTAT	TACAATGTTA
20. Kizilirmak 3	TTTTATTATT	ATTATCCTTA	CCTGTTTTAG	CTGGGGCTAT	TACAATATTG
21. Kizilirmak 4	TTTTATTATT	ATTATCCTTA	CCTGTTTTAG	CTGGGGCTAT	TACAATATTG
22. Kizilirmak 5	TTTTATTATT	ATTATCCTTA	CCTGTTTTAG	CTGGGGCTAT	TACAATATTG
23. Kizilirmak 6	TTTTATTATT	ATTATCCTTA	CCTGTTTTAG	CTGGGGCTAT	TACAATATTG
24. Kizilirmak 7	TTTTATTATT	ATTATCCTTA	CCTGTTTTAG	CTGGGGCTAT	TACAATGTTA

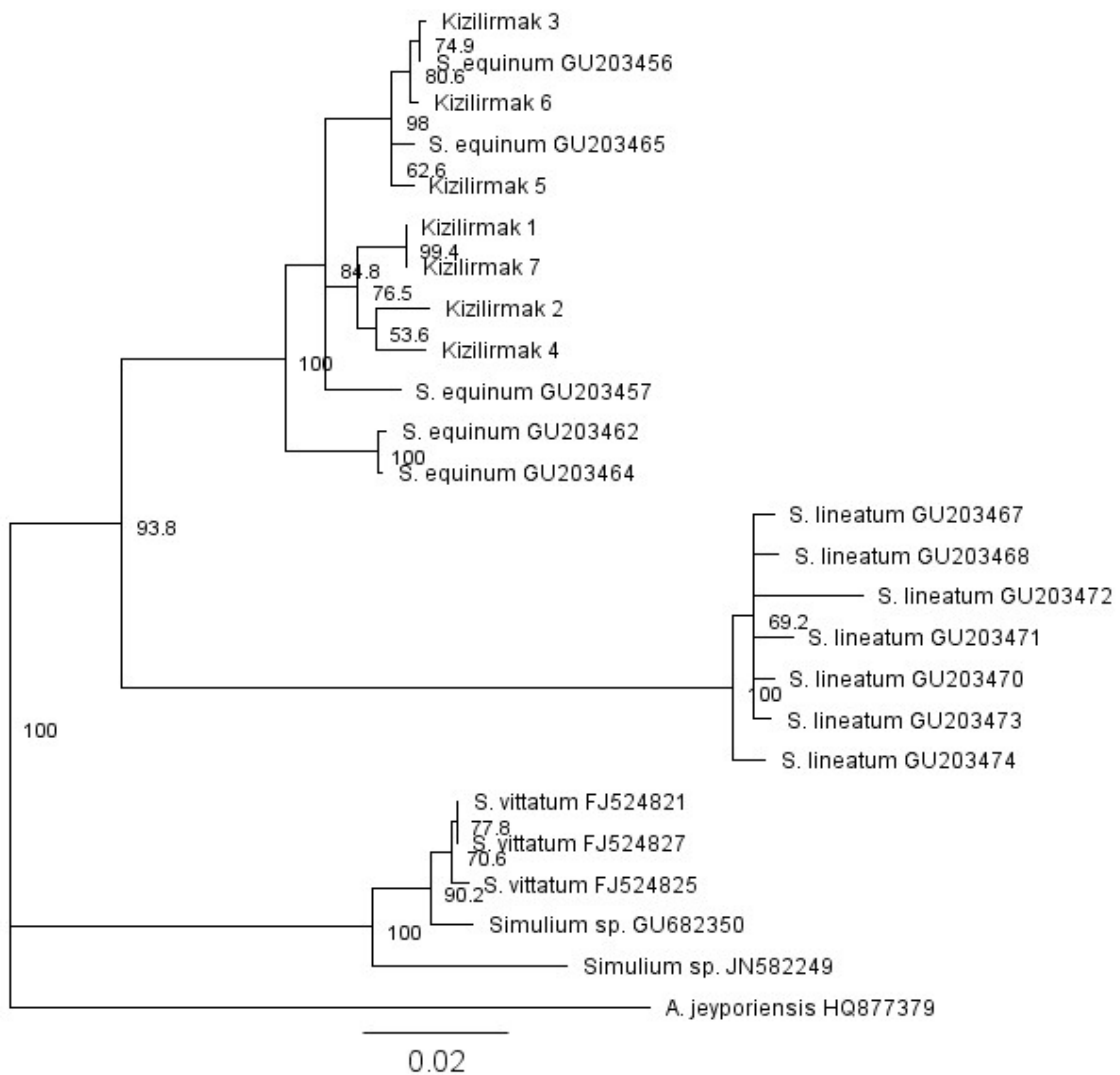


	610	620	630	640	650
1. FJ524821	TTGACAGAC	GAAATTTAAA	TTACTTC	TTT	TTTGACCCG
2. FJ524825	TTGACAGAC	GAAATTTAAA	TTACTTC	TTT	TTTGACCCG
3. FJ524827	TTGACAGAC	GAAATTTAAA	TTACTTC	TTT	TTTGACCCG
4. GU203456	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
5. GU203457	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
6. GU203462	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
7. GU203464	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
8. GU203465	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
9. GU203467	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
10. GU203468	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
11. GU203470	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
12. GU203471	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
13. GU203472	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
14. GU203473	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
15. GU203474	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
16. GU682350	TTAACAGAC	GAAATTTAAA	TTACTTC	TTT	TTTGACCCG
17. JN582249	TTAACAGAC	GAAATTTAAA	TTACTTC	TTT	TTTGACCCG
18. Kizilirmak 1	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
19. Kizilirmak 2	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
20. Kizilirmak 3	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
21. Kizilirmak 4	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
22. Kizilirmak 5	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
23. Kizilirmak 6	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
24. Kizilirmak 7	TTAACAGATC	GAAATTTAAA	CACTTCATTT	TTT	TTTGACCCAG
	660	670	680	690	700
1. FJ524821	AGACCC	TTATACCAAC	ATTTA		
2. FJ524825	AGACCC	TTATACCAAC	ATTTA		
3. FJ524827	AGACCC	TTATACCAAC	ATTTA		
4. GU203456	AGACCCAATT	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGGT	CACCGGAA
5. GU203457	AGACCCAATT	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTG	
6. GU203462	AGACCCAATT	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGGT	CA
7. GU203464	AGACCCAATT	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGGT	CACCGG
8. GU203465	AGACCCAATT	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTG	
9. GU203467	GGA	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGGT	CACCCGAAA
10. GU203468	GGA	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTG	
11. GU203470	GGA	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGGT	CAC
12. GU203471	GGA	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGGT	CT
13. GU203472	GGA	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGAC	
14. GU203473	GGA	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGGT	CACCGGAAA
15. GU203474	GGA	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGGT	CACCCGAAA
16. GU682350	AGA	TTATACCAAC	ATTTATTTT		
17. JN582249	AGACCC	TTATACCAAC	ATTTATTTT		
18. Kizilirmak 1	AGACCCAATT	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGGT	CACC
19. Kizilirmak 2	AGACCCAATT	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGGT	CACCC
20. Kizilirmak 3	AGACCCAATT	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGGT	CACC
21. Kizilirmak 4	AGACCCAATT	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGGT	CA
22. Kizilirmak 5	AGACCCAATT	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTT	
23. Kizilirmak 6	AGACCCAATT	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGGT	C
24. Kizilirmak 7	AGACCCAATT	TTATACCAAC	ATTTATTTTG	ATTTTTTTGGT	CACCCG

**Şekil 4.25.** Araştırma yöresinde incelenen *Simulium* izolatları ile Dünyadaki diğer bazı *Simulium* izolatlarının parsiyel mt-COI gen bölgesine göre nükleotid dizilimlerinin alignmantları

Şekil 4.25’de görüleceği üzere mt-COI gen bölgesine göre *Simulium* türleri ve izolatları arasında çeşitli nükleotid değişimleri belirlenmiştir. Filogenetik analiz sonucunda Kızilirmak izolatlarının *Simulium (Wilhelmia)* soyunda olduğu belirlenmiştir. Kızilirmak 1-7 izolatları ile GenBank’a kayıtlı diğer bazı *Simulium* izolatlarının mt-COI gen bölgesine göre Neighbor joining metodu (Tamura Nei modeli) ile oluşturulan filogenetik ağacı Şekil 4.26’da verilmiştir. Filogenetik analiz sonucu Kızilirmak izolatları arasında %97,2-100,0, dünyadan diğer *Simulium* izolatları ile ise %87,0-100,0 oranında identiklik belirlenmiştir. Mt-COI gen bölgesine göre Kızilirmak izolatlarının *S. equinum* izolatları ile aynı filogenetik grupta yer aldığı ve yüksek oranda identik

oldukları belirlenmiştir. Kizilirmak 3 ve Kizilirmak 6 izolatu en yüksek identikliği Litvanya'dan pupa devresinden elde edilmiş *S. equinum* A1NemunasI izolatu (GU203456) ile, Kizilirmak 5 izolatu Litvanya'dan pupa devresinden elde edilmiş *S. equinum* H10Virinta izolatu (GU203465) ile göstermiştir. Kizilirmak 1, Kizilirmak 2, Kizilirmak 4 ve Kizilirmak 7 izolatları diğer Kizilirmak izolatlarına yakın olmakla birlikte ayrı filogenetik branşta yer aldığı ve en yüksek identikliği yine Litvanya'dan pupa devresinden elde edilmiş *S. equinum* B10Dubysa izolatu (GU203457) ile gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlarla araştırma yoresinde incelenen simuliid larvaları *S. (Wilhelmia) equinum* olarak identifiye edilmiştir.



**şekil 4.26.** Kızilirmak izolatları ile GenBank'a kayıtlı diğer *Simulium* izolatlarının parsiyel mt-COI gen bölgesine göre filogenetik akrabalıkları (Neighbour Joining – Tamura Nei modeli). Dış grup olarak *Anopheles jeyporiensis* (HQ977379) kullanılmıştır. Ölçek çizgisi bölgeye göre nükleotid değişimini göstermektedir.

Araştırma yöresinde elde edilen simuliid izolatlarıyla ribozomal complete ITS 2 ve parsiyel 28S gen bölgesi yönünden blastn kıyaslaması yapılan ve Multiple alignmentta dahil edilen Dünya'daki diğer bazı *Simulium* izolatlarının aksesyon numaraları ve izolatlara ait bilgiler GenBank'tan alınarak Tablo 4.4'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.4.** Ribozomal ITS-2 ve 28S gen bölgeleri için dünyadan Multiple alignmentta dahil edilen diğer bazı *Simulium* izolatlarının aksesyon numaraları ve izolatlara ait bilgiler

İzolat	Orijin	DNA izolasyon kaynağı	Türler	Aksesyon Numarası
Zhangpu1clone 2	Çin	Ergin	<i>S. aureohirtum</i>	FJ538885
Zhangpu1 clone 1	Çin	Ergin	<i>S. aureohirtum</i>	FJ538884
-	Kanada	Larva	<i>S. quebecense</i>	FJ436350
C174 clone 1	Çin	Ergin	<i>S. quinquestriatum</i>	AY594320
-	Amerika	Larva	<i>S. damnosum</i>	SDU36205
-	Amerika	Larva	<i>S. sanctipauli</i>	SSU36206
-	Hindistan	Pupa	<i>S. praelargum</i>	JN107756
clone 2b	Amerika	Larva	<i>S. sirbanum</i>	SSU36210
So13	Uganda	Ergin	<i>S. pandanophilum</i>	AY625915
Pm5(BNI)	Kongo	Ergin	<i>S. squamosum</i>	DQ655650
Eth11-K16	Etyopya	Ergin	<i>S. kaffaense</i>	AY625919
-	Kanada	Larva	<i>S. euryadminiculum</i>	FJ437567
-	Kanada	Larva	<i>S. annulus</i>	FJ437566
Ny8	Uganda	Larva	<i>S. kilibanum</i>	AY625937

Araştırma yöresinde nükleotid dizileri ortaya konan Kızılırmak izolatları ile Dünyadan Multiple alignment'a dahil edilen diğer *Simulium* izolatlarının complete ITS-2 ve parsiyel 28S gen bölgesine göre nükleotid kompozisyonları Tablo 4.5'de, pairwise alignmentları ise Şekil 4.27'de verilmiştir.

**Tablo 4.5.** Multiple alignmentları yapılan pozitif izolatlar ve Dünyadan diğer bazı izolatların nükleotid kompozisyonları

<b>İzolat/Aksesyon no</b>	<b>T (%)</b>	<b>C (%)</b>	<b>A (%)</b>	<b>G (%)</b>	<b>G+C (%)</b>	<b>A+T (%)</b>	<b>Toplam nükleotid sayısı</b>
Kizilirmak 1	36,3	13,7	34,7	15,3	29,0	71,0	380,0
Kizilirmak 2	36,3	14,1	34,4	15,2	29,3	70,7	375,0
Kizilirmak 3	36,4	14,2	34,3	15,0	29,2	70,7	379,0
Kizilirmak 4	36,1	13,9	34,7	15,3	29,2	70,8	380,0
Kizilirmak 5	36,1	14,0	34,8	15,0	29,0	70,9	379,0
Kizilirmak 6	35,9	14,0	34,8	15,3	29,3	70,7	379,0
Kizilirmak 7	36,2	13,4	34,9	15,5	28,9	71,1	381,0
Zhangpu1clone 2	29,0	16,6	34,5	19,9	36,5	63,5	831,0
Zhangpu1 clone 1	29,0	16,6	34,4	20,0	36,6	63,4	831,0
FJ436350	29,2	18,0	30,1	22,7	40,7	59,3	2703,0
C174 clone 1	29,7	15,8	35,0	19,5	35,3	64,7	876,0
SDU36205	30,1	15,2	37,3	17,4	32,6	67,4	856,0
SSU36206	30,6	15,3	36,5	17,5	32,8	67,1	810,0
JN107756	31,3	14,3	36,4	18,0	32,3	67,7	428,0
clone 2b	29,8	15,4	37,3	17,4	32,8	67,1	855,0
So13	36,3	13,3	34,9	15,6	28,9	71,2	430,0
Pm5(BNI)	37,3	13,4	34,2	15,1	28,5	71,5	424,0
Eth11-K16	38,0	13,3	33,8	14,9	28,2	71,8	429,0
FJ437567	29,2	17,9	30,4	22,5	40,4	59,6	2497,0
FJ437566	29,2	17,9	30,4	22,5	40,4	59,6	2497,0
Ny8	37,5	13,3	34,0	15,2	28,5	71,5	429,0



	F538885	F538884	F3436350	A1594320	S0U36205	SSU36206	JN107756	SSU36210	A1625915	DQ655650	A1625919	F3437567	F3437566	A1625937	Kızılmak 2	Kızılmak 5	Kızılmak 6	Kızılmak 4	Kızılmak 1	Kızılmak 7
F538885	99.5%	99.5%	69.4%	86.0%	67.2%	71.2%	84.3%	66.6%	82.6%	80.8%	80.4%	84.6%	84.6%	80.9%	85.6%	85.8%	85.1%	85.3%	85.1%	85.4%
F538884	99.5%		69.1%	85.6%	66.9%	70.9%	83.7%	66.3%	82.2%	80.4%	80.0%	84.4%	84.4%	80.4%	85.6%	85.8%	85.1%	85.3%	85.1%	85.3%
F3436350	69.4%	69.1%		67.7%	67.5%	65.3%	75.8%	67.2%	77.3%	76.3%	76.6%	88.8%	88.8%	76.8%	81.4%	81.4%	80.6%	80.9%	81.2%	81.0%
A1594320	86.0%	85.6%	67.7%		63.6%	67.1%	92.9%	63.2%	78.4%	76.4%	75.3%	81.7%	81.7%	75.7%	78.4%	78.6%	78.0%	78.2%	78.2%	78.2%
S0U36205	67.2%	66.9%	67.5%	63.6%		90.7%	75.4%	97.2%	88.5%	96.5%	95.4%	60.5%	60.5%	93.6%	78.4%	78.6%	78.4%	78.6%	78.6%	78.8%
SSU36206	71.2%	70.9%	65.3%	67.1%	90.7%		75.1%	90.7%	88.7%	97.2%	97.2%	64.5%	64.5%	78.8%	79.0%	78.8%	79.1%	79.1%	79.1%	79.3%
JN107756	84.3%	83.7%	76.8%	92.9%	75.4%	75.1%		75.1%	73.2%	72.5%	71.4%	77.9%	77.9%	72.1%	81.0%	81.2%	80.3%	80.5%	80.5%	80.3%
SSU36210	66.6%	66.3%	67.2%	63.2%	97.2%	90.7%	75.1%		88.7%	96.3%	95.6%	60.7%	60.7%	94.7%	78.1%	78.3%	78.1%	78.3%	78.3%	78.6%
A1625915	82.6%	82.2%	77.3%	78.4%	88.5%	88.7%	73.2%	88.7%		88.5%	88.7%	76.5%	76.5%	90.0%	77.6%	77.6%	77.6%	77.9%	77.9%	78.2%
DQ655650	80.8%	80.4%	76.9%	76.4%	96.5%	97.2%	72.5%	96.3%	88.5%		95.8%	75.5%	75.5%	93.8%	77.1%	77.1%	77.3%	77.1%	77.1%	77.4%
A1625919	80.4%	80.0%	76.6%	75.3%	95.4%	97.2%	71.4%	95.6%	88.7%	95.8%		75.2%	75.2%	94.7%	76.8%	76.8%	76.5%	76.8%	76.8%	77.0%
F3437567	84.6%	84.4%	88.8%	81.7%	60.5%	64.5%	77.9%	60.7%	76.5%	75.5%	75.2%		99.9%	76.2%	79.2%	79.2%	78.7%	79.0%	79.0%	78.2%
F3437566	84.6%	84.4%	88.8%	81.7%	60.5%	64.5%	77.9%	60.7%	76.5%	75.5%	75.2%	99.9%		76.2%	79.2%	79.2%	78.7%	79.0%	79.0%	78.2%
A1625937	80.9%	80.4%	76.8%	75.7%	93.6%	95.1%	72.1%	94.7%	90.0%	93.8%	94.7%	76.2%	76.2%		77.7%	77.7%	78.4%	78.7%	78.7%	78.7%
Kızılmak 2	85.6%	85.6%	81.4%	78.4%	78.4%	78.8%	81.0%	78.1%	77.6%	77.1%	76.8%	79.2%	79.2%	77.7%		100%	98.7%	98.9%	98.7%	97.6%
Kızılmak 5	85.8%	85.8%	81.4%	78.6%	78.6%	79.0%	81.2%	78.3%	77.6%	77.1%	76.8%	79.2%	79.2%	77.7%	100%		98.7%	99.0%	98.7%	97.6%
Kızılmak 6	85.1%	85.1%	80.6%	78.0%	78.4%	78.8%	80.3%	78.1%	77.6%	77.3%	76.5%	78.7%	78.7%	78.4%	98.7%	98.7%		99.7%	99.5%	98.4%
Kızılmak 4	85.3%	85.3%	80.9%	78.2%	78.6%	79.1%	80.5%	78.3%	77.9%	77.1%	76.8%	79.0%	79.0%	78.7%	99.0%	99.0%	99.7%		99.7%	98.7%
Kızılmak 1	85.1%	85.1%	81.2%	78.2%	78.6%	79.1%	80.5%	78.3%	77.9%	77.1%	76.8%	79.0%	79.0%	78.7%	98.7%	98.7%	99.5%	99.7%		98.4%
Kızılmak 7	85.4%	85.3%	81.0%	78.0%	78.9%	79.4%	80.3%	78.6%	78.2%	77.4%	77.0%	78.8%	78.8%	79.0%	98.1%	98.2%	99.0%	99.2%	99.5%	97.9%
Kızılmak 3	85.3%	85.3%	80.2%	78.2%	78.8%	79.3%	80.3%	78.5%	78.2%	77.4%	77.0%	78.2%	78.2%	78.7%	97.6%	97.6%	98.4%	98.7%	98.4%	97.9%

**Şekil 4.27.** Araştırma yöresinde GenBank'a kayıtları yapılan *Simulium* sp. izolatlarının ve Dünyadan filogenetik analize dahil edilen diğer *Simulium* izolatların ribozomal complete ITS-2 ve parsiyel 28S nükleotid dizilimlerinin pairwise analizleri

Araştırma yöresinde sekans analizi yapılan Kızılırmak izolatları ile Dünya'da GenBank'a kayıtlı benzer diğer bazı *Simulium* izolatlarının, ribozomal complete ITS-2 ve parsiyel 28S gen bölgelerinin Multiple alingmentları ve nükleotid kıyaslamaları Şekil 4.28'de gösterilmiştir.

1. FJ538885	1	10	20	30	40	50
2. FJ538884	T	C	G	A	C	A
3. FJ436350	T	C	G	A	C	A
4. AY594320	T	C	G	A	C	A
5. SDU36205	T	C	G	A	C	A
6. SSU36206	T	C	G	A	C	A
7. JN107756						
8. SSU36210	T	C	G	A	C	A
9. AY625915	T	C	G	A	C	A
10. DQ655650	T	C	G	A	C	A
11. AY625919	T	C	G	A	C	A
12. FJ437567	T	C	G	A	C	A
13. FJ437566	T	C	G	A	C	A
14. AY625937	T	C	G	A	C	A
15. Kizilirmak 2						
16. Kizilirmak 5						
17. Kizilirmak 6						
18. Kizilirmak 4						
19. Kizilirmak 1						
20. Kizilirmak 7						
21. Kizilirmak 3						
	60	70	80	90	100	
1. FJ538885	A	G	A	A	T	G
2. FJ538884	A	G	A	A	T	G
3. FJ436350	A	G	A	A	T	G
4. AY594320	A	G	A	A	T	G
5. SDU36205	A	G	A	A	T	G
6. SSU36206	A	G	A	A	T	G
7. JN107756						
8. SSU36210	A	G	A	A	T	G
9. AY625915	A	G	A	A	T	G
10. DQ655650	A	G	A	A	T	G
11. AY625919	A	G	A	A	T	G
12. FJ437567	A	G	A	A	T	G
13. FJ437566	A	G	A	A	T	G
14. AY625937	A	G	A	A	T	G
15. Kizilirmak 2						
16. Kizilirmak 5						
17. Kizilirmak 6						
18. Kizilirmak 4						
19. Kizilirmak 1						
20. Kizilirmak 7						
21. Kizilirmak 3						
	110	120	130	140	150	
1. FJ538885	T	G	T	T	C	T
2. FJ538884	T	G	T	T	C	T
3. FJ436350	T	G	T	T	C	T
4. AY594320	T	G	T	T	C	T
5. SDU36205	T	G	T	T	C	T
6. SSU36206	T	G	T	T	C	T
7. JN107756						
8. SSU36210	T	G	T	T	C	T
9. AY625915	T	G	T	T	C	T
10. DQ655650	T	G	T	T	C	T
11. AY625919	T	G	T	T	C	T
12. FJ437567	T	G	T	T	C	T
13. FJ437566	T	G	T	T	C	T
14. AY625937	T	G	T	T	C	T
15. Kizilirmak 2						
16. Kizilirmak 5						
17. Kizilirmak 6						
18. Kizilirmak 4						
19. Kizilirmak 1						
20. Kizilirmak 7						
21. Kizilirmak 3						



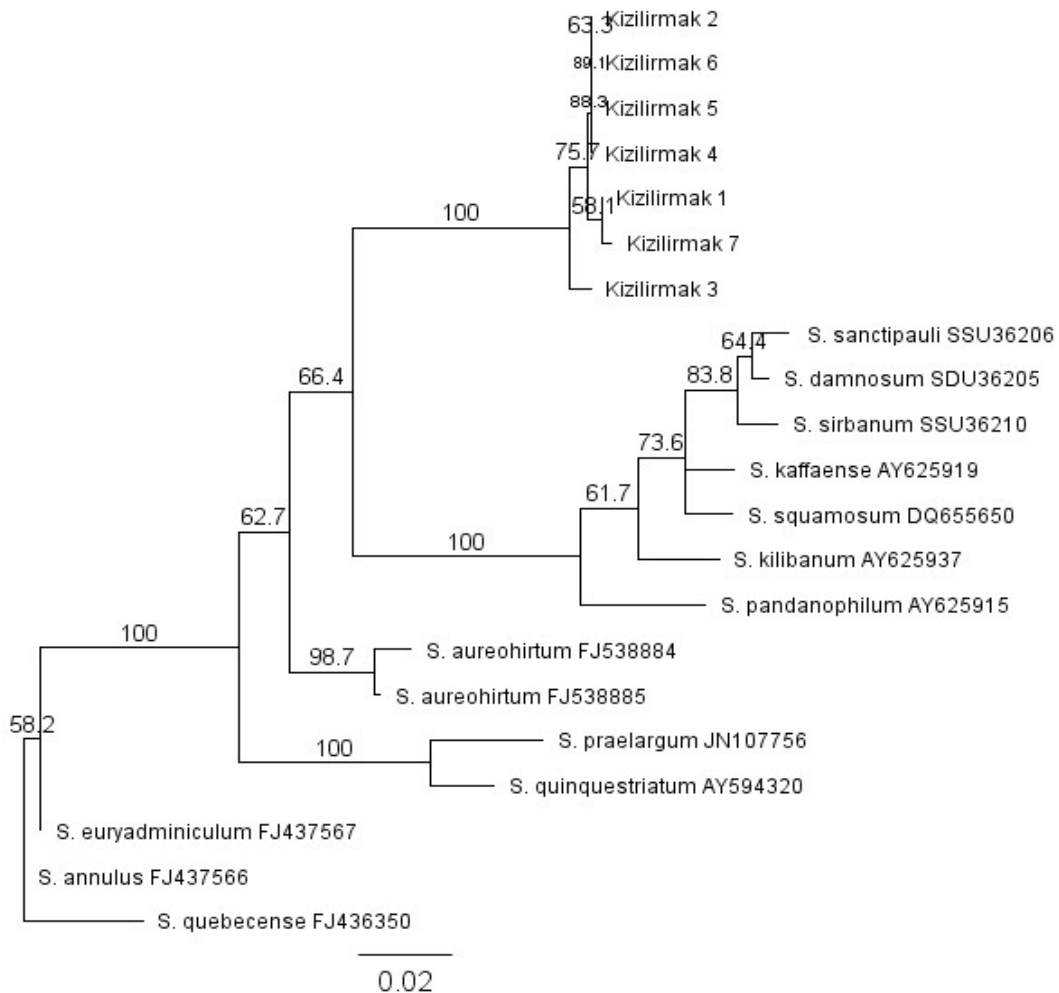
		180		170		180		190		200
1. FJ538885	--TG	GTAA	CA	T	----	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	C	GAGATATGA
2. FJ538884	--TG	GTAA	CA	T	----	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	C	GAGATATGA
3. FJ436350	GT	CGCT	TAATA	CC	GGTC	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCAA		GAGATATGA
4. AY594320	--GC	TT	TAA	TC	GGC	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCAA		GAGATGTGA
5. SDU36205	T	TGC	CAAAA	A	----	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	T	GAGATATGA
6. SSU36206	T	TGC	CAAAA	A	----	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	T	GAGATATGA
7. JN107756	--GC	TT	TAA	TC	GGCC	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCAA		GAGATGTGA
8. SSU36210	TT	GAC	CAAAA	----	----	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	T	GAGATATGA
9. AY625915	--GC	AA	AAAG	----	----	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	T	GAGATGTGA
10. DQ655650	T	TGC	CAAAA	A	----	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	T	GAGATATGA
11. AY625919	T	TGC	CAAAA	----	----	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	T	GAGATATGA
12. FJ437567	TT	CTC	TGTAA	T	----	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCAA		GAGATATGA
13. FJ437566	TT	CTC	TGTAA	T	----	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCAA		GAGATATGA
14. AY625937	T	TAC	CAAAA	----	----	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	T	GAGATATGA
15. Kizilirmak 2	G	TGCAAT	CA	AC	GGCCA	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	C	GAGATATGA
16. Kizilirmak 5	G	TGCAAT	CA	AC	GGCCA	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	C	GAGATATGA
17. Kizilirmak 6	G	TGCAAT	CA	AC	GGCCA	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	C	GAGATATGA
18. Kizilirmak 4	G	TGCAAT	CA	AC	GGCCA	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	C	GAGATATGA
19. Kizilirmak 1	G	TGCAAT	CA	AC	GGCCA	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	C	GAGATATGA
20. Kizilirmak 7	G	TGCAAT	CA	AC	GGCCA	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	C	GAGATATGA
21. Kizilirmak 3	G	TGCAAT	CA	AC	GGCCA	AGA	CTCATATTTG	ATTAAATCA	C	GAGATATGA
		210		220		230		240		250
1. FJ538885	--AA	ATCAAA	TACAG	--TT	ATC	----	TA	CACTTGCTT	T	GTT--GGTAG
2. FJ538884	--AA	ATCAAA	TACA	--ATT	ATC	----	TA	CACTTGCTT	T	GTT--GGTAG
3. FJ436350	--AA	ATCAAA	TACAG	--TT	ACCA	----	-T	AACTTGCTT	T	GT--GGAAG
4. AY594320	--AA	ATCAAA	TACAG	--TT	AAC	ACATATC	AA	TTGAT	T	GT--GAAAG
5. SDU36205	ATA	TAT	TAAA	TAA	AG	CTT	--A	----	----	T--AGTAG
6. SSU36206	ATA	TAT	TAAA	TAA	AG	CTT	--A	----	----	T--AGTAG
7. JN107756	--AA	ATCAAA	TACAG	--TT	AAC	ACATATC	AA	TTGAT	T	GT--GAAAG
8. SSU36210	ATA	TAT	TAAA	TAA	AG	CTT	--A	----	----	T--AGTAG
9. AY625915	ATA	TAT	TAAA	TAC	AG	CTT	A--	----	----	CTTGATAT
10. DQ655650	ATA	TAT	TAAA	TAA	AG	CTT	--A	----	----	CTTG--
11. AY625919	ATA	TAT	TAAA	TAA	AG	CTT	--A	----	----	CTTG--
12. FJ437567	--AA	ATCAAA	TACAG	AG	TT	ACC	----	AT	AA	TTACTTS
13. FJ437566	--AA	ATCAAA	TACAG	AG	TT	ACC	----	AT	AA	TTACTTS
14. AY625937	ATA	TAT	TAAA	TAA	AG	CTT	--A	----	----	CTTG--
15. Kizilirmak 2	CT	CAAT	CAAA	TACA	--	ATTT	ATC	----	AT	AACTTGCTT
16. Kizilirmak 5	CT	CAAT	CAAA	TACA	--	ATTT	ATC	----	AT	AACTTGCTT
17. Kizilirmak 6	CT	CAAT	CAAA	TACA	--	ATTT	ATC	----	AT	AACTTGCTT
18. Kizilirmak 4	CT	CAAT	CAAA	TACA	--	ATTT	ATC	----	AT	AACTTGCTT
19. Kizilirmak 1	CT	CAAT	CAAA	TACA	--	ATTT	ATC	----	AT	AACTTGCTT
20. Kizilirmak 7	CT	CAAT	CAAA	TACA	--	ATTT	ATC	----	AT	AACTTGCTT
21. Kizilirmak 3	CT	CAAT	CAAA	TACA	--	ATTT	ATC	----	AT	AACTTGCTT
		260		270		280		290		300
1. FJ538885	C-CTA	-TTT	A	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
2. FJ538884	C-CTA	-TTT	A	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
3. FJ436350	C-CTA	-TTT	A	GC	ATTTT	GTA	TA	A	ACTATC	ATTTCTT
4. AY594320	C-CTA	-TTT	A	AT	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
5. SDU36205	C-CTA	-TTT	TG	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
6. SSU36206	C-CTA	-TTT	TG	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
7. JN107756	C-CTA	-TTT	A	AT	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
8. SSU36210	C-CTA	-TTT	TG	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
9. AY625915	C-CTA	-TTT	TG	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
10. DQ655650	C-CTA	-TTT	TG	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
11. AY625919	C-CTA	-TTT	TG	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
12. FJ437567	CG	CTA	TTT	A	AT	TTT	GTA	TA	A	ACTATC
13. FJ437566	CG	CTA	TTT	A	AT	TTT	GTA	TA	A	ACTATC
14. AY625937	C-CTA	-TTT	TG	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
15. Kizilirmak 2	C-CTA	-TTT	TG	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
16. Kizilirmak 5	C-CTA	-TTT	TG	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
17. Kizilirmak 6	C-CTA	-TTT	TG	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
18. Kizilirmak 4	C-CTA	-TTT	TG	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
19. Kizilirmak 1	C-CTA	-TTT	TG	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
20. Kizilirmak 7	C-CTA	-TTT	TG	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT
21. Kizilirmak 3	C-CTA	-TTT	TG	AC	ATTTT	TATA	TG	A	ACTATC	ATTTCTT



	310	320	330	340	350
1. FJ538885	T-TATGTAGA	TTATAAAAG	AAACATGTGG	-A-ATATGG	---TGAAAC
2. FJ538884	T-TATGTAGA	TTATAAAAG	AAACATGTGG	-A-ATATGG	---TGAAAC
3. FJ436350	--TATGTAA	TTATAAAAG	-AACGTGCTG	-A---TTGG	GCGATAAAAC
4. AY594320	--TATGTAGA	TTATAAAACA	AAATAT-TGA	-A---TTGG	GCGATAAGCA
5. SDU36205	TATATGTAGA	TTATAAAAG	AAACATGTCA	TATATATATGG	TTTCATAT--C
6. SSU36206	TATATGTAGA	TTATAAAAG	AAACATGTCA	T-TATATGG	TTTCATAT--C
7. JN107756	TATATGTAGA	TTATAAAACA	AAATAT-TGA	---ATTTGG	G---TGAACT
8. SSU36210	TATATGTAGA	TTATAAAAG	AAACATGTCA	T-TATATGG	TTTCATAT--C
9. AY625915	TATATGTAGA	TTATAAAAGA	AAACATGTCA	TA-ATATGG	TGCA-ATTTTC
10. DQ655650	TATATGTAGA	TTATAAAAG	AAACATGTCA	T-TATATGG	TTTCATAT--C
11. AY625919	TATATGTAGA	TTATAAAAG	AAACATGTCA	T-TATTTGG	TTTCATAT--C
12. FJ437567	TATATGTAA	TTATAAAAG	-AACATAT--	---TAGATAG	G---TGAAAC
13. FJ437566	TATATGTAA	TTATAAAAG	-AACATAT--	---TAGATAG	G---TGAAAC
14. AY625937	TATATGTAGA	TTATAAAAG	AAACATGTCA	T-TATATGG	TTTCATATTTAC
15. Kizilirmak 2	TATATGTGGA	TTATAAAAC	-AAATGTCA	A-TAATTGG	G---TGAAAT
16. Kizilirmak 5	TATATGTGGA	TTATAAAAC	-AAATGTCA	A-TAATTGG	G---TGAAAT
17. Kizilirmak 6	TATATGTGGA	TTATAAAAC	-AAATGTCA	A-TAATTGG	G---TGAAAT
18. Kizilirmak 4	TATATGTGGA	TTATAAAAC	-AAATGTCA	A-TAATTGG	G---TGAAAT
19. Kizilirmak 1	TATATGTGGA	TTATAAAAC	-AAATGTCA	A-TAATTGG	G---TGAAAT
20. Kizilirmak 7	TATATGTGGA	TTATAAAAC	-AAATGTCA	A-TAATTGG	G---TGAAAT
21. Kizilirmak 3	TATATGTGGA	TTATAAAAC	-AAATGTCA	A-TATTGGG	---TGAACT
	360	370	380	390	400
1. FJ538885	A-AGT-ATA	TGAAATGAC	TGTCCTT-TG	CATA--CTAT	AAATTATACA
2. FJ538884	A-AGT-ATA	TGAAATGAC	TGTCCTT-TG	CATA--CTAT	AAATTATACA
3. FJ436350	A-AGTCAATT	TGAC--CGA	TGCATT-TG	AATA--CTAT	AAATTATACA
4. AY594320	ATAACAATT	TGAT-TCAAC	TGCATT-TG	GATA--CTAT	AAATTATACA
5. SDU36205	A-AGTAACTT	-AATAAAT	TAAATA-TA	TATATAATAT	AAATTATACA
6. SSU36206	A-AGTAACTT	ATAAAT-A	TAAATA-TA	TATATAATAT	AAATTATACA
7. JN107756	A-AGTCAATT	TGAT-TCGAC	TGCATT-TG	GATA--CTAT	AAATTATACA
8. SSU36210	A-AGTAACTT	-AATAAAT	TAAATA-TA	TATATAATAT	AAATTATACA
9. AY625915	A-AGTG-CTA	ATATATTTAA	TATATA-TA	TATATACTAT	AAATTATACA
10. DQ655650	A-AGTAACTT	ATAATATAAT	TAAAT---	-ATA-AATAT	AAATTATACA
11. AY625919	A-AGTAACTT	ATAAAT-A	TAAATATA	TATATAATAT	AAATTATACA
12. FJ437567	A-AGTCAAA	TGAC--CGAC	TGCATTTTG	AATA--CTAT	AAATTATACA
13. FJ437566	A-AGTCAAA	TGAC--CGAC	TGCATTTTG	AATA--CTAT	AAATTATACA
14. AY625937	A-AGTGCTTA	TGAAAT-A	TAAATA-TA	TATATAATAT	AAATTATACA
15. Kizilirmak 2	A-AGTCAATT	T-AAAT-GAA	TGTATT-TG	AATATACTAT	AAATTATACA
16. Kizilirmak 5	A-AGTCAATT	T-AAAT-GAA	TGTATT-TG	AATATACTAT	AAATTATACA
17. Kizilirmak 6	A-AGTCAATT	T-AAAT-GAA	TGTATT-TG	AATATACTAT	AAATTATACA
18. Kizilirmak 4	A-AGTCAATT	T-AAAT-GAA	TGTATT-TG	AATATACTAT	AAATTATACA
19. Kizilirmak 1	A-AGTCAATT	T-AAAT-GAA	TGTATT-TG	AATATACTAT	AAATTATACA
20. Kizilirmak 7	A-AGTCAATT	T-AAAT-GAA	TGTATT-TG	AATATACTAT	AAATTATACA
21. Kizilirmak 3	A-AGTCAATT	T-AAAT-GAA	TGTATT-TG	AATATACTAT	AAATTATACA
	410	420	430	440	450
1. FJ538885	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	CTACCCCTG	AATTTAAGCA	TATTAATAAG
2. FJ538884	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	CTACCCCTG	AATTTAAGC	TATTAATAAG
3. FJ436350	TAGCCTCAAC	TCAT			
4. AY594320	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	CTACCCCTG	AATTTAAGCA	TATTAATAAG
5. SDU36205	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	CTACCCCTG	AATTTAAGCA	TATTAATAAG
6. SSU36206	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	CTACCCCTG	AATTTAAGCA	TATTAATAAG
7. JN107756	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	CTACCCCTG	AATTTAAGCA	TATTAATAAG
8. SSU36210	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	CTACCCCTG	AATTTAAGCA	TATTAATAAG
9. AY625915	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	C		
10. DQ655650	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	C		
11. AY625919	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	C		
12. FJ437567	TAGCCTCAAC	TCAT			
13. FJ437566	TAGCCTCAAC	TCAT			
14. AY625937	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	C		
15. Kizilirmak 2	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	CTACCCCTG	AATTTAAGCA	TATTA
16. Kizilirmak 5	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	CTACCCCTG	AATTTAAGCA	TATTAATAA
17. Kizilirmak 6	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	CTACCCCTG	AATTTAAGCA	TATTAATAAG
18. Kizilirmak 4	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	CTACCCCTG	AATTTAAGCA	TATTAATAAG
19. Kizilirmak 1	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	CTACCCCTG	AATTTAAGCA	TATTAATAAG
20. Kizilirmak 7	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	CTACCCCTG	AATTTAAGCA	TATTAATAAG
21. Kizilirmak 3	TAGCCTCAAC	TCATGTGAGA	CTACCCCTG	AATTTAAGCA	TATTAATAA

**Şekil 4.28.** Araştırma yöresinde incelenen Kızılırmak izolatları ile Dünyadaki diğer bazı *Simulium* izolatlarının ribozomal complete ITS-2 ve parsiyel 28S gen bölgesine göre nükleotid dizilimlerinin alignmentları

Şekil 4.28’de görüleceği üzere ribozomal ITS-2 gen bölgesine göre *Simulium* türleri ve izolatları arasında çeşitli nükleotid değişimleri, delesyonları ve insertionları saptanırken 28S gen bölgesinin stabil olduğu belirlenmiştir. Kızılırmak 1-7 izolatları ile GenBank’a kayıtlı diğer bazı *Simulium* izolatlarının ribozomal ITS-2 ve 28S gen bölgesine göre Neighbor joining metodu (Tamura Nei modeli) ile oluşturulan filogenetik ağacı Şekil 4.29’da verilmiştir. Filogenetik analiz sonucu Kızılırmak izolatları arasında %97,6-100,0, dünyadan diğer *Simulium* izolatları ile ise %75,6-85,8 oranında identiklik gösterdiği belirlenmiştir. Ribozomal ITS-2 gen bölgesine göre tüm Kızılırmak izolatlarının dünyadan analize tabii tutulan diğer izolatlara göre ayrı filogenetik branşta yer aldığı saptanmıştır.



**Şekil 4.29.** Kızılırmak izolatları ile GenBank’a kayıtlı diğer *Simulium* izolatlarının parsiyel ribozomal ITS-2 ve 28S gen bölgesine göre filogenetik akrabalıkları (Neighbour Joining – Tamura Nei modeli). Dış grup olarak *Simulium quebecense* (HQ977379) kullanılmıştır. Ölçek çizgisi bölgeye göre nükleotid değişimini göstermektedir

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Diptera dizi Nematocera dizi bölümünde yer alan ve dünyanın her bölgesinde görülebilen önemli ailelerden birisi de Simulidae (Kara sinekler, Blackflies) ailesidir. Simulidae ailesinde bu güne kadar 2101'i yaşayan, 12'si ortadan kalkmış (fossil) toplam 2113 tür tarif edilmiş ve bunların 1697'si Simulium soyunda yer almıştır (1). Simuliidler kan emerek yaptıkları parazitliğin yanında *Onchocerca volvulus*, *O. gutturosa*, *O. cervipedis*, *O. dukei*, *O. lienalis*, *O. ochengi*, *O. ramachandrini*, *O. tarcicola*, *Dirofilaria ursi*, *Splendidofilaria fallisensis*, *Mansonella ozzardi*, *Trypanosoma avium*, *Try. confusum*, *Try. corvi*, *Try. numidae*, *Leucocytozoon anatis*, *L. smithi*, *L. caulleryi*, *Hemoproteus nettionis* türleri gibi parazitlerin yanında çeşitli viral (Arbovirus) ve bakteriyel patojenlerin de vektörlüğünü yaparlar (1, 5-7). Kayseri ilinde Yamula Barajı Hidroelektrik santralinin 2006 yılında faaliyete geçmesi ile birlikte Orta Kızılırmak Havzasının Kayseri ve Nevşehir ilinden geçen bölümünde simuliid popülasyonunda afet boyutunda bir artış meydana gelmiş ve bu afete karşı kontrol ve mücadele programı başlatılmıştır.

Türkiye'de günümüze kadar simuliid sinekler ve onların etkileri üzerine yapılmış çalışmalar sınırlıdır. Bu çalışmalarda değişik gelişme dönemleri üzerinde morfolojik identifikasyonlar yapılmıştır. Bu çalışmalarda 50'nin üzerinde türün varlığı bildirilmiştir (2, 10, 12-22, 51). Bu çalışmalardan Yılmaz ve ark. (2) Kayseri-Nevşehir arasında kalan Orta Kızılırmak bölgesinde morfolojik olarak *Simulium (Wilhelmia) lineatum*'un

varlığını rapor etmişlerdir. Bununla beraber Türkiye’de simuliid türleri üzerine sitogenetik kromozomal analize ve moleküler karakterizasyona dayalı kombine bir araştırma bulunmamaktadır. Ancak, GenBank kayıtlarında Laboratory of Entomology, Institute of Ecology of Vilnius University’den Bernotiene, R isimli bir araştırmacı tarafından girilmiş Kızılırmak *S. lineatum* B1Turkey (GU203468) ve C2Turkey (GU203472) isimli iki izolat ilgili kayda rastlanılmıştır. Mevcut araştırmada ise Orta Kızılırmak Havzası’nın Nevşehir ilinden geçen bölümünde örnekleme yapılan simuliid türlerinin moleküler karakterizasyonları yapılmıştır.

Başlıca simuliid nesilleri (major lineages, örneğin, alt aileler ve soylar) arasındaki evrimsel ilişki; kromozomal, moleküler ve morfolojik karakterlerin uygulanması ile iyi bir şekilde çözülmüş ve desteklenmiştir (5, 25, 52). Polytene kromozomların analizi ile nominal türlerin 28 farklı kromozom çiftinde doğal hibridizasyon belirlenmiştir. *Simulium damnosum* complex içindeki türler arasında doğal hibridizasyon sıklığı yaklaşık 0.0009- 0.001 olarak belirlenmiş (53, 54), ayrıca deneysel hibridizasyon da başarılmıştır (55). *Simulium* doğal popülasyonlarında sıradışı derecede polimorfizm belirlenmiştir. Polimorfizmlerin büyük bölümü inversiyonlardır. Bu inversiyonlardan %97’si paracentric inversiyonlardır (56). Morfolojinin evrimsel analizi, çevresel etkiyle etkilenebildiği için genellikle zordur ve birçok genin fazla ya da daha az etkisi ile saptanma ihtimali vardır. Bunun yanında kendi gerçeği içinde morfolojik analiz direkt olarak uygulanabilirliği yönünden önem arz etmektedir. Örneğin tarsal tırnağın şekli, konak derisine tutunmada bir adaptasyon olarak nitelenmektedir (57). Kromozomal varyasyonlar direkt uygulanabilir karakterde değildir. Ancak kullanışlı genetik markerları sağlarlar. Sitogenetik varyasyonun uygulanabilirliği sınırlı olup, tüm genetik varyasyonları yansıtmamaktadır. Bu açıdan kromozomal varyasyonlarla ilişkili olmayan kardeş türlerin çeşitliliği henüz netliğe kavuşmamıştır.

Moleküler biyolojik teknikler simuliid türlerinin analizi için daha çok özelliğin incelenmesine imkan sağlamıştır. Bu teknikler genel olarak nükleik asitler (genellikle DNA), proteinler (enzimler ve yapısal proteinler) ve ikincil metabolitler (örn; lipitler ve karbonhidratlar) olarak üç gruba ayrılmaktadır. DNA varyasyonu genetikdir. Bunların ekspresyonu çevresel faktörlerden etkilenmemektedir. İlgili genin kodon sekansını yansıtan protein varyasyonu, amino asit dizilimindeki değişikliklerin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte protein varyasyonu, post-translasyonel



modifikasyondan da etkilenebilir. Böylece bu varyasyonlar, her zaman genetik olarak saptanamayabilir (58). İkincil metabolitler ise enzimatik faaliyetler sonucu ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla bunlar, genetik temelden bir adım daha uzakta bulunurlar. Sitogenetik, morfolojik (59, 60) ve moleküler (25) çalışmalar ışığında Simuliinae alt ailesinin holoarctic *Prosimuliini* ve tüm dünyada aygın olan *Simuliini* olmak üzere iki soya ayrıldığını ortaya koymuştur.

Simuliid türlerinin evrimsel ve filogenetik ilişkilerinin araştırılmasında çeşitli nükleer ribozomal ve mitokondrial gen bölgeleri çalışılmıştır. Ribozomal gen bölgeleri için 16S ve 18S small subunit, 5.8S ve 28S gibi large subunit, ITS-1 ve ITS-2 gibi non fonksiyonel gen bölgeleri; mitokondriyal gen bölgeleri için ise NAD4 ve COI gibi gen bölgeleri filogenetik ilişkilerin incelenmesinde tercih edilen gen bölgeleri olmuştur (29, 30, 35, 39-41, 46, 47). Cytochrome c oxidase enzimi, bakteri ve mitokondride bulunan geniş transmembran protein kompleksidir. Mitokondrinin membranında yer alan elektron transport zincirindeki en son enzimdir. Her dört cytochrome c molekülünden de elektron alır ve bunları bir oksijen molekülüne dönüştürür. Bu enzim, moleküler oksijenin iki molekül suya çevrilmesinden sorumludur. Bu süreçte su oluşturmak için iç sıvı fazdan 4 protona bağlanır. Buna ilaveten membran boyunca bu 4 protonun translokasyonunu da sağlar. Neticede ATP sentezinde proton elektrokimyasal potansiyelinin transmembran farklılığını belirlemeye yardımcı olur. Böylece ATP sentezi gerçekleşir. Mt-COI gen bölgesi, ökaryotlarda göstermiş olduğu intraspesifik polimorfizm ile filogenetik analizlerde yaygın olarak kullanılan mitokondrial gen bölgelerinin başında gelmektedir (61). Simuliid türler üzerine GenBank'ta mt-COI gen bölgesinin araştırıldığı farklı ülkelerden çeşitli kayıtlar bulunmaktadır. Pramula ve ark., (39), *Gomphostilbia* altsoyundaki 13 türden oriyental karasinekte (Oriental black fly) mitokondriyal cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gen bölgesinin farklılıkları üzerine yaptıkları filogenetik araştırmada, intraspesifik genetik farklılığı, ortalama %2,75 (%0-9.28) interspesifik genetik uzaklığı ise %0.34-16.05 olarak belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar (39) mt-COI gen bölgesine göre DNA barkodlamasının cryptik biyo farklılığı (biodiversity) belirlemede ve geleneksel taksonomiye kolaylaştırmada önemli olduğunu kaydetmişler, morfolojik kriterlere göre belirlenen *Gomphostilbia* altsoyundaki tür gruplarının monophyletic olmadığını ve bu soydaki klasifikasyonun tekrar değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya koymuşlardır. Rivera ve ark. (47), Nearctic simuliid türleri içerisinde morfolojik olarak farklı 65 tür ve kardeş tür içeren tür

kompleksinde genetik varyasyonu, mt-COI gen bölgesine göre araştırmışlar, benzer turler arasında genetik varyasyonu %14.93 olarak saptarken morfolojik farklı turlerde intraspesifik genetik varyasyonu ise %0.72 olarak bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar (47) DNA barkodlamanın simuliidlerdeki cryptic çeşitliliğin araştırılmasında ve tür identifikasyonunda etkili bir yöntem olduğunu kaydetmişlerdir. Mevcut araştırmada da yukarıda bildirilen çalışmalara (39, 47, 61) paralel olarak araştırma yöresinden elde edilen simuliid izolatlarının mt-COI gen bölgesine intraspesifik polimorfik alanların varlığı saptanmıştır. Nükleotid farklılıklarına göre Kızılırmak izolatları arasında %97,2-100,0, dünyadan diğer *Simulium* izolatları ile ise %87,0-100,0 oranında identiklik belirlenmiştir. Mt-COI gen bölgesine göre Kızılırmak izolatlarının *S. equinum* izolatları ile aynı filogenetik grupta yer aldığı ve identik oldukları görülmüştür. Kızılırmak 3 ve Kızılırmak 6 izolatu en yüksek identikliği Litvanya'dan pupa devresinden elde edilmiş *S. equinum* A1NemunasI izolatu (GU203456) ile, Kızılırmak 5 izolatu Litvanya'dan pupa devresinden elde edilmiş *S. equinum* H10Virinta izolatu (GU203465) ile göstermiştir. Kızılırmak 1, Kızılırmak 2, Kızılırmak 4 ve Kızılırmak 7 izolatları diğer Kızılırmak izolatlarına yakın olmakla birlikte ayrı filogenetik branşta yer aldığı ve en yüksek identikliği yine Litvanya'dan pupa devresinden elde edilmiş *S. equinum* B10Dubysa izolatu (GU203457) ile gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlarla araştırma yöresinde izole edilen Kızılırmak izolatları *S. (Wilhelmia) equinum* olarak identifiye edilmiş olup bu veriler Orta Kızılırmak Havzasında *S. (Wilhelmia) equinum* varlığına dair ilk moleküler kayıtlardır. Özellikle Kızılırmak 1, Kızılırmak 2, Kızılırmak 4 ve Kızılırmak 7 izolatlarının filogenide ayrı branşta yer alması Rivera ve ark. (2009) nın belirttiği gibi cryptic turler ve/veya kardeş turlerin varlığının bir göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Insektlerdeki ribozomal DNA diğer ökaryotlarda olduğu gibi birbirinden önceden "nontranscribed spacers (NTS)" olarak bilinen intergenik spacerlar (IGS) ile ayrılmış birbirini takip eden ünitelerden oluşmuştur. Her ünite; sırasıyla 18S, 5.8S, ve 28S ribozomal RNA'yı kodlayan genler ile spacerlardan [external transcribed spacer (ETS) ve internal transcribed spacers 1 (ITS1) ve 2 (ITS2)] oluşur (Hillis & Dixon, 1991). Kodlanmayan bölgeler ITS-1 ve ITS-2, kodlanan 18S, 5.8S, ve 28S rDNA genleri arasında yer alır. ITS-1, küçük subunite 18S ve 5.8S subuniteleri birbirinden ayırırken, ITS-2, büyük subunite 5.8S ve 28S gen bölgelerini ayırır. 18S, 5.8S, ve 28S kodlanan gen bölgeleri, yüksek düzeyde korunmuş olup üst düzey filogenilerin inşaasında yaygın

olarak kullanılır (62, 63). Bunun aksine kodlanmayan gen bölgeleri ITS-1 ve ITS-2 yüksek düzeyde değişkenlik gösterir ve kodlanan bölgelere göre daha hızlı oranda değişim gösterir (64). Nükleer rDNA'da bulunan intergenik spacer ITS-2, birçok simuliid türünde tek bir kromozom üzerinde yerleşmiş (Rothfels, 1979) bir gen bölgesi olup, birçok organizmanın filogenetik çalışmalarında moleküler araçlara büyük bir katkısı olmuştur. ITS-2 sekans kıyaslamaları birbirine çok yakın türlerin ayrımında (65, 66), popülasyon farklılıklarında (67, 68), tür içinde veya türler arasındaki farklılıkların ortaya konmasında (38, 69), ve evrimsel ilişkilerin yeniden oluşturulmasında (35, 46, 69, 70-74) oldukça kullanışlı olmuştur. Bu çalışmada da ribozomal complete ITS-2 gen bölgesine göre izolatların yüksek düzeyde genetik değişkenlik gösterdiği, parsiyel 28S gen bölgesine göre ise konservatif yapıda olduğu saptanmıştır. Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar, yukarıda verilen araştırmaların (35, 46, 69, 70-74) bulgularıyla paralellik göstermiştir. Filogenetik analiz sonucu Kızılırmak izolatları arasında %97,6-100,0, dünyadan diğer *Simulium* izolatları ile ise %75,6-85,8 oranında identiklik belirlenmiştir. Ayrıca ribozomal ITS-2 gen bölgesine göre tüm Kızılırmak izolatlarının dünyadan analize tabii tutulan diğer izolatlara göre ayrı filogenetik branşta yer aldığı görülmüştür.

Sonuç olarak bu çalışma, *Simulium* türleri üzerine Türkiye' de yapılmış ilk moleküler karakterizasyon araştırmasıdır. Orta Kızılırmak Havzasının Ürgüp ve Gülşehir bölgelerinden geçen kısımlarından toplanan *Simulium* larva örneklerinin moleküler karakterizasyonları sonucunda örneklerin *Simulium* ( *Wilhelmia* ) *equinum* olduğu ortaya konmuştur. Türkiye' de ilk kez moleküler olarak tanımlanmış olan *Simulium* ( *Wilhelmia* ) *equinum*' un mitokondriyal ve ribozomal gen bölgelerine izolatların filogenileri saptanmış ve GenBank kayıtları gerçekleştirilmiştir. Böylece Türkiye' de *Simulium* ( *Wilhelmia* ) *equinum*' un varlığı moleküler olarak teyit edilmiştir.

Mevcut çalışma, Türkiye'de *Simulium* türlerinin epidemiyolojisi ile yaygın tür ve/veya alttürlerin genotiplerinin ortaya konması açısından model olma niteliğinde olup bu alanda daha kapsamlı sitogenetik kromozomal, morfolojik ve moleküler kombine araştırmalara ihtiyaç olduğunu göstermiştir.

## 6. KAYNAKLAR

1. Adler PH, Crosskey RW (2011). World Blackflies (Diptera: Simuliidae): A Comprehensive Revision of the Taxonomic and Geographical Inventory. <http://entweb.clemson.edu/biomia/pdfs/blackflyinventory.pdf> (10.11.2011)
2. Yılmaz A, İnci A, Tunçbilek ŞA, et al. Orta Kızılırmak Havzasında Karasinek (*Simulium* (*Wilhelmia*) *lineatum*) (Diptera: Simuliidae) İstilası. E Ü Vet Fak Derg 2007; 4: 91-95.
3. Adler PH, Crosskey RW (2009). World Blackflies (Diptera: Simuliidae): A Comprehensive Revision of the Taxonomic and Geographical Inventory. <http://entweb.clemson.edu/biomia/pdfs/blackflyinventory.pdf> (09.10.2011)
4. Myburgh E, Nevill EM. Review of blackfly (Diptera: Simuliidae) Control in South Africa. Onderstepoort J Vet Res 2003; 70: 307-316.
5. Adler PH, Currie DC, Wood DM. The Black Flies (Simuliidae) of North America. Cornell University Press in Association with the Royal Ontario Museum, USA, 2004: 941.
6. Gray EW, Adler PH, Coscaron-Arias C, et al. Development of the first blackfly (Diptera: Simuliidae) Management program in Argentina and comparison with other programs. J Am Mosq Control Assoc 1999; 15: 400-406.
7. Stoops CA, Adler PH. Feeding behavior of larval blackflies (Diptera: Simuliidae) with and without exposure to *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*. J Vector Ecol 2006; 31: 79-83.
8. Kim KS, Tsuda Y, Yamada A. Blood meal identification and detection of avian malaria parasite from mosquitoes (Diptera: Culicidae) inhabiting coastal areas of Tokyo Bay, Japan. J Med Entomol 2009; 46: 1230-4.



9. Imura T, Sato Y, Ejiri H, et al. Molecular identification of blood source animals from black flies (Diptera: Simuliidae) collected in the alpine regions of Japan. *Parasitol Res* 2010; 106: 543-547.
10. Özbek H, Hayat R, Aslan İ. Erzurum'un bazı ilçelerinde simuliid (Diptera, Simuliidae) salgını. *Türk Entomol Derg* 1995; 19: 37-42.
11. Akarsu GA, Güngör Ç, Yergök HİÇ, et al. Bir idrar örneğinde *Simulium* larvası. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2003; 56: 131-134.
12. Kazancı N, Clergue-Gazeau M. Simuliidae de Turquie. I: Premieresdonneesfaunistiques et biogeographiques (Diptera, Simuliidae). *Annales de Limnologie* 1990; 26: 45-50.
13. Clergue-Gazeau M, Kazancı N. Türkiye Simuliidae (Insecta: Diptera) Faunası II: Çeşitli akarsu sistemlerinden toplanmış türlere ekolojik bir yaklaşım. *Hacettepe Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* 1992; 13: 17-32.
14. Balık S, Ustaoglu MR, Özbek M, et al. Yelköprü Mağarası (Dikili, İzmir) ve yakın çevresinin sucul faunası hakkında bir ön araştırma. *EÜ Su Ürünleri Dergisi* 2002; 19: 221-225.
15. Şirin Ü, Sahin Y. New records of blackflies (Diptera, Simuliidae) for the Turkish fauna. *Zoology in the Middle East* 2005; 36: 99-104.
16. Crosskey RW, Zwick H (2007). New faunal records with taxonomic annotations for the Blackflies of Turkey (Diptera: Simuliidae). *Aqutaic Insects* 2007; 29: 21-48.
17. Zwick H. On a small collection of wild-caught adult black flies (Diptera: Simuliidae) from Turkey. *Entomologist's Monthly Magazine* 2007; 143: 100.
18. Kazancı N, Ertunç Ö. Bazı Simuliidae (Insecta: Diptera) türlerinin habitat özellikleri. *EÜ Su Ürünleri Dergisi* 2008a; 25: 319-323.
19. Kazancı N, Ertunç Ö. On the Simuliidae (Insecta, Diptera) fauna of Turkey. *Review of Hydrobiology* 2008b; 1: 27-36.
20. Ertunç Ö, Türkmen G, Kazancı N. Research on Simuliidae (Insecta: Diptera) fauna of Yedigöller National Park (Bolu, Turkey). *Review of Hydrobiology* 2008; 2: 81-92.
21. Ertunç Ö. Türkiye'nin Batısındaki Bazı Akarsuların Simuliidae (Insecta: Diptera) Faunası Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2009:104.
22. Kazancı N, Ertunç Ö. Simuliidae (Insecta, Diptera) türlerinin Yeşilirmak Nehri Havzası (Türkiye)'nin sucul habitat kalitesini belirlemede indicator olarak kullanılmaları. *Review of Hydrobiology* 2010; 3: 27-36.
23. Crosskey RW. Simuliid taxonomy. In: Laird M (ed) *Black flies: the future for biological methods in integrated control*. Academic Press, London 1981; 3-18.

24. Jitklang S, Kuvangkadilok C, Baimai V, et al. Cytogenetics and morpho taxonomy of the *Simulium* (*Gomphostilbia*) *ceylonicum* species group (Diptera: Simuliidae) in Thailand. *Zoo taxa* 2008; 1917:1-28.
25. Moulton JK. Molecular sequence data resolves basal divergences within Simuliidae (Diptera). *Syst Entomol* 2000; 25: 95-113.
26. Moulton JK. Can the current molecular Arsenal adequately track rapid divergence events within Simuliidae (Diptera)? *Mol Phylogenet Evol* 2003; 27: 45-57.
27. Xiong B, Kocher TD. Comparison of mitochondrial DNA sequences of seven morpho species of black flies (Diptera: Simuliidae). *Genome* 1991; 34: 306-311.
28. Pruess KP, Zhu X, Powers TO. Mitochondrial transfer RNA genes in a blackfly, *Simulium vittatum* (Diptera: Simuliidae), indicate long divergence from mosquito (Diptera: Culicidae) and fruitfly (Diptera: Drosophilidae). *J Med Entomol* 1992; 29: 644-651.
29. Higazi TB, Boakye DA, Wilson MD, et al. Cyto taxonomic and molecular analysis of *Simulium* (*Edwardsellum*) *damnosum sensulato* (Diptera: Simuliidae) from Abu Hamed, Sudan. *J Med Entomol* 2001; 37: 547-553.
30. Kruger A, Hennings IC. Molecular phylogenetics of black flies of the *Simulium damnosum* complex and cytophylogenetic implications. *Mol Phylogenet Evol* 2006; 39:83-90.
31. Phayuhaseana S, Colgan DJ, Kuvangkadilok C, et al. Phylogenetic relationships among the black fly species (Diptera: Simuliidae) of Thailand based on multiple gene sequences. *Genetica* 2010; 138:633-648.
32. Conflitti IM, Kratochvil MJ, Spironello M, et al. Good species behaving badly: Non-monophyly of black fly sibling species in the *Simulium arcticum* complex (Diptera: Simuliidae). *Mol Phylogenet Evol* 2010; 57:245-257.
33. Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, et al. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 2003a; 270:313-321.
34. Hebert PDN, Ratnasingham S, deWaard JR. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 2003b; 270:96-99.
35. LaRue B, Gaudreau C, Bagre HO, et al. Generalized structure and evolution of ITS1 and ITS2 rDNA in blackflies (Diptera:Simuliidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 2009; 53:749-757.
36. Brockhouse CL, Vajime CG, Marin R, et al. Molecular identification of onchocerciasis vector sibling species in blackflies (Diptera:Simuliidae). *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 194: 628-634.

37. Krueger A, Kalinga AK, Kibweja, AM, et al. Cytogenetic and PCR-based identification of *S. damnosum* 'Nkusi J' as the anthropophilic blackfly in the Uluguru onchocerciasis focus in Tanzania. *Trop Med Int Health* 2006; 11:1066-1074.
38. Tang J, Toè L, Back C, et al. Intra-specific heterogeneity of the rDNA internal transcribed spacer in the *Simulium damnosum* (Diptera:Simuliidae) complex. *Mol Biol Evol* 1996; 13:244-252.
39. Pramual P, Wongpakam K, Adler P. Cryptic biodiversity and phylogenetic relationships revealed by DNA barcoding of Oriental black flies in the subgenus *Gomphostilbia* (Diptera: Simuliidae). *Genome* 2011; 54: 1-9.
40. Tang Jand, Unnasch TR. Discriminating PCR artifacts using DHDA (directed heteroduplex analysis). *BioTechniques*1995a; 19: 902-905.
41. Tang JM, Toe L, Back C, et al. Mitochondrial alleles of *Simulium damnosum* sensulato infected with *Onchocerca volvulus*. *Int J Parasitol* 1995b; 25:1251-1254.
42. Krüger A, Gelhaus A, Garms R. Molecular identification and phylogeny of East African *Simulium damnosum* and their relationship with West African species of the complex (Diptera: Simuliidae). *Insect Mol Biol* 2000; 9:101-108.
43. Riley CM, Fusco R. Field efficacy of Vectobac-12AS and Vectobac-24AS against black fly larvae in new Brunswick streams (Diptera: Simuliidae). *J Am Mosq Cntrol Assoc* 1990; 6: 43-6.
44. Regis L, da Silva SB, Melo-Santos MA. The use of bacterial larvicides in mosquito and black fly control programmes in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000; 95:207-210.
45. Das SC, Nath DR, Bhuyan M, et al. Field trial of abate and Teknar for *Simulium* (Diptera: Simuliidae) control in India. *J Am Mosq Control Assoc* 1990; 6:135-137.
46. Thanwisai A, Kuvangkadilok C, Baimai V. Molecular phylogeny of blackflies (Diptera: Simuliidae) from Thailand, using ITS2 rDNA. *Genetica* 2006; 128:177-204.
47. Rivera J, Currie DC. Identification of Nearctic blackflies using DNA barcoding (Diptera: Simuliidae). *Mol Ecol Res* 2009; 9: 224-236.
48. Hall TA. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT, *Nucleic Acids Symposium Series* 1999; 41:95-98.
49. Drummond AJ, Ashton B, Buxton S, et al. Geneious v5.5, Available from <http://www.geneious.com> (18.10.2011).
50. Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods, *Molecular Biology and Evolution* (submitted) 2011.

51. Gazyağcı AN. Kırıkkale ve Ankara Yöresi Kızılırmak Nehrinde Simuliidae Türlerinin Yayılışı, Doktora Tezi. Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Parazitoloji AD, Kırıkkale 2011.
52. Rothfels KH. 1979. Cytotaxonomy of black flies (Simuliidae). *Annu Rev Entomol* 1979; 24: 507-539.
53. Post RJ. Natural interspecific hybridisation of *Simulium sanctipauli* s.l. with *Simulium squamosum* and *Simulium yahense* (Diptera: Simuliidae). *Tropenmed. Parasitol* 1984; 35:58-60.
54. Boakye DA, Mosha FW. Natural hybridization between *Simulium sanctipauli* and *S. sirbanum*, two sibling species of the *S. damnosum* complex. *Med Vet Entomol* 1988; 2:397-399.
55. Meredith SEO, Boakye DA, Raybould JN et al. Experimental hybridization between members of the *Simulium damnosum* complex. *Med Vet Entomol* 1987; 1:193-199.
56. Bedo DG. Cytogenetics and evolution of *Simulium ornatipes* Skuse (Diptera: Simuliidae). I. Sibling speciation. *Chromosoma* 1977; 64:37-65.
57. Gryaznov AI. Morphological adaptations of bloodsucking blackflies to their hosts. In: Narchuk EP, Zlobin VV. (Eds.), *Diptera (Insecta) of the Fauna of the USSR and Their Significance in Ecosystems [Dvukrylye Fauny SSSR i Ikh Rol' v Ekosistemakh]*. Akademiya Nauk SSSR, Leningrad [=St. Petersburg], Russia, pp. 31-34 (in Russian; English translation: 1992. *Entomol Rev* 1984; 71: 143-145.
58. Pasteur N, Pasteur G, Binhomme F, et al. *Practical Isozyme Genetics*. Ellis Horwood Ltd, Chichester 1988; 215.
59. Grenier P, Rageau J. Remarque's sur la classification des Simuliidae. *Bull Soc Pathol Exot* 1960; 53: 727-742.
60. Currie DC. *Phylogeny of Primitive Simuliidae (Insecta: Diptera: Culicimorpha)*. Ph.D. dissertation, University of Alberta, Edmonton, Canada, 1988.
61. Khalimonchuk O, Rödel G. Biogenesis of cytochrome c oxidase. *Mitochondrion* 2005; 5: 363-88.
62. Nirmala X, Hyspa V, Zurovec M, 2001. Molecular phylogeny of Calypterae (Diptera: Brachycera): the evolution of 18S and 16S ribosomal rDNA in higher dipterans and their use in phylogenetic inference. *Insect Mol Biol* 2001; 10: 475-485.
63. Shi M, Chen XX, Achterberg C. Phylogenetic relationships among the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) inferred from partial 16S rRNA, 28S rDNA D2, 18S rDNA gene sequences and morphological characters. *Mol Phylogenet Evol* 2005; 37: 104-116.



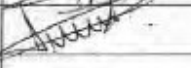
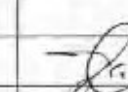

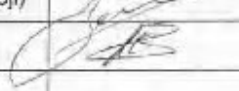
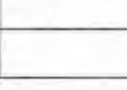
64. Schlotterer C, Hauser MT, Haeseler AV. Comparative evolutionary analysis of rDNA ITS regions in *Drosophila*. *Mol Biol Evol* 1994; 11: 513–522.
65. Walton C, Handley M, Kuvangkadilok C, et al. Identification of five species of the *Anopheles dirus* complex from Thailand, using allele-specific polymerase chain reaction. *Med Vet Entomol* 1999; 13: 24-32.
66. Hackett BJ, Ginnig J, Guelbeogo W, et al. Ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS2) sequences differentiate *Anopheles funestus* and *An. rivulorum*, and uncover a cryptic taxon. *Insect Mol Biol* 2000; 9: 369-374.
67. Fritz GN, Conn J, Cockburn A et al. Sequence analysis of the ribosomal DNA internal transcribed spacer 2 from populations of *Anopheles nuneztovari* (Diptera: Culicidae). *Mol Biol Evol* 1994; 11: 406-416.
68. Marrellin MT, Malafronte RS, Flores-Mendoza C, et al. Sequence analysis of the second internal transcribed spacer of ribosomal DNA in *Anopheles oswaldoi* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 1999; 36: 679-684.
69. Malafronte RS, Marrelli MT, Marinotti O. Analysis of ITS2 DNA sequences from Brazilian *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 1999; 36: 631-634.
70. Depaquit J, Ferte H, Le'ger N. et al. Molecular systematics of the phlebotomine sandflies of the subgenus *Paraphlebotomus* (Diptera, Phlebotomidae, *Phlebotomus*) based on ITS2 rDNA sequences. Hypotheses of dispersion and speciation. *Insect Mol Biol* 2000; 9: 293-300.
71. Weekers PHH, De Jonckheere JF, Dumont HJ. Phylogenetic relationships inferred from ribosomal ITS sequences and biogeographic patterns in representatives of the genus *Calopteryx* (Insect: Odonata) of the West Mediterranean and adjacent West European zone. *Mol Phylogenet Evol* 2001; 20: 89-99.
72. Oliverio M, Cervelli M, Mariottini P. ITS2 rRNA evolution and its congruence with the phylogeny of muricid neogastropods (Caenogastropoda, Muricoidea). *Mol Phylogenet Evol* 2002; 25: 63-69.
73. Toma T, Miyagi I, Crabtree MB, et al. Investigation of the *Aedes* (*Stegomyia*) *flavopictus* complex (Diptera: Culicidae) in Japan by sequence analysis of the internal transcribed spacers of ribosomal DNA. *J Med Entomol* 2002; 13: 461-468.
74. Young I, Coleman AW. The advantages of the ITS2 region of the nuclear rDNA cistron for analysis of phylogenetic relationships of insects: a *Drosophila* example. *Mol Phylogenet Evol* 2004; 30:236-242.



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ  
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI  
KAYSERİ-TÜRKİYE

ETİK KURULUN ADI : Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı  
ETİK KURULUN ADRESİ : Erciyes Üniversitesi

Tarih: 12.01.2011 Toplantı Sayısı: 01 Karar No: 11/02  
Etik kurul toplantısı 12.01.2011 tarihinde Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel  
Etik Kurul Prof.Dr.Zübeyde GÜNDÜZ Başkanlığı'nda başkanlığında gerçekleştirilmiştir

Üye Adı/Soyadı	Akademik Ünvanı	Fakültesi	
Zübeyde Gündüz	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Harun Ülger	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Özlem Canöz	Prof.Dr.	Tıp Fakültesi	
Hatice Özbilge	Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Servet Kesim	Yrd. Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Davut Bayram	Öğrt. Gör. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Coşkun Tez	Doç. Dr.	Fen Fakültesi	
M. Betül Aycan	Yrd. Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi(Farmakoloji)	
Ahmet Öztürk	Öğrt. Gör. Dr.		
Serap Altıntaş Eroğlu	Avukat		
Halil Tekiner	Eczacı		


Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Alparslan YILDIRIM tarafından yapılan "Orta Kızılırmak Havzasının Nevşehir Bölümünde Sorun Oluşturan Karasinek (Diptera : Simuliidae ) Türlerinin Moleküler Klasifikasyonu "adlı araştırması incelenerek çalışmasının yapılmasının uygun olacağına ve rektörlük makamına sunulmasına oy birliğiyle karar verildi.

Tarih : 12.01.2011

Etik Kurul Başkanı İmzası

Etik Kurul Başkanı : Prof.Dr.Zübeyde GÜNDÜZ

ASLININ AYNI DİR

Dokan Selçuk  
Bingöl Kocaman  


# ÖZGEÇMİŞ

## KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı, Soyadı:** Hakan YEŞİLÖZ

**Uyruğu:** (TC)

**Doğum Tarihi ve Yeri:** 20 Ekim 1973, Nevşehir

**Medeni Durumu:** Evli

**Tel:** +90 532 3504977

**email:** hakanyesiloz@hotmail.com

**Yazışma Adresi:** Nevşehir Gıda, Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü /NEVŞEHİR

## EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet
Lisans	Ankara Ü. Veteriner Fakültesi	2000
Lise	Nevşehir Lisesi	1990

## İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
1999-2000	Pet Doctors Evcil Hayvanlar Ltd. Şti.	Veteriner Hekim
2002-2005	Tosun Veteriner Kliniği	Veteriner Hekim
2005-2006	Nevşehir Belediyesi	Veteriner Hekim
2006-	Nevşehir Gıda, Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü	Veteriner Hekim

## YABANCI DİL

İngilizce