



**T.C.  
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BALIKESİR KAZDAĞI MİLLİ PARKI'NDAKİ  
ÖTÜCÜ KUŞLARIN YÜKSEKLİĞE BAĞLI KAN  
PARAZİTLERİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE  
ARAŞTIRILMASI**

**Tuğba TUNÇEL**

**BURDUR, 2019**

**T.C.  
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BALIKESİR KAZDAĞI MİLLİ PARKI'NDAKİ  
ÖTÜCÜ KUŞLARIN YÜKSEKLİĞE BAĞLI KAN  
PARAZİTLERİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE  
ARAŞTIRILMASI**

**Tuğba TUNÇEL**

**Danışman: Prof. Dr. Tamer ALBAYRAK**

**BURDUR, 2019**

## YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

Tuğba TUNÇEL tarafından Prof. Dr. Tamer ALBAYRAK yönetiminde hazırlanan “Balıkesir, Kazdağı Milli Parkı’ndaki Ötücü Kuşların Yüksekliğe Bağlı Kan Parazitlerinin Moleküler Düzeyde Araştırılması” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 19/07 /2019

**Prof. Dr. Tamer ALBAYRAK** (Başkan)

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

**Prof. Dr. Özlem ÖZMEN** (Jüri Üyesi)

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji ABD

**Dr. Öğr. Üyesi Ebru Çelen** (Jüri Üyesi)

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

### ONAY

Bu Tez, Enstitü Yönetim Kurulu’nun \_\_\_\_\_ Tarih ve \_\_\_\_\_ Sayılı Kararı ile Kabul Edilmiştir.

(İmza)

**Prof.Dr. Ayşe Gül MUTLU GÜLMEMİŞ**

Müdür  
Fen Bilimleri Enstitüsü

## ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi / Doktora Tezi olarak sunduğum “**Bahkesir, Kazdağı Milli Parkı’ndaki Ötücü Kuşların Yüksekliğe Bağlı Kan Parazitlerinin Moleküler Düzeyde Araştırılması**” başlıklı bu tezin;

- Kendi çalışmam olduğunu,
- Sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi,
- Bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi,
- Kullandığım verilerde değişiklik yapmadığımı,
- Tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı,
- Bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı,

bildirir, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

19 / 07 / 2019

(İmza)

Tuğba TUNÇEL

## ÖNSÖZ

Lisans ve Yüksek lisans eğitimim boyunca, bilimsel anlamda donanım kazanmama katkıda bulunan, değerli bilgilerini bizimle paylaşıp yol gösteren, kuşlara ve bilimsel çalışmalara ilgimi artıran ve istekle çalışmamı sağlayan değerli hocam ve danışmanım Prof. Dr. Tamer ALBAYRAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma boyunca laboratuvar ve arazi çalışmalarında yardımını esirgemeyen ve özveri ile çalışan Uzman Biyolog Pınar ÖGE'ye, arazi çalışmalarında yardımını ve desteğini esirgemeyen Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Öğretim Üyesi, Doç. Dr. Deniz ŞİRİN'e, arazi çalışmaları boyunca özveri ile çalışan ve aynı zamanda proje yürütücüsünün oğlu olan Deniz ALBAYRAK'a teşekkür ederim.

Tez çalışmasının tamamlanmasında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi BAP (Bilimsel Araştırmalar Projesi) **0292-YL-16** numaralı projesinde maddi destek sağlamasından dolayı sonsuz teşekkür ederim. Çalışmanın yürütülmesinin yapıldığı ve ekipmanlarını kullandığım MAKÜ Moleküler Ornitoloji Laboratuvarı'nın TUBİTAK **113O271** numaralı projesi kapsamında bursiyer olarak çalışmamı sağlayan TUBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

**Temmuz, 2019**

**Tuğba TUNÇEL**

# İÇİNDEKİLER

|   | Sayfa |
|---|-------|
| ÖNSÖZ .....   | i     |
| İÇİNDEKİLER .....   | ii    |
| ŞEKİL DİZİNİ .....  | iii   |
| ÇİZELGE DİZİNİ .....  | v     |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....  | vi    |
| ÖZET .....  | vii   |
| SUMMARY .....   | viii  |
| 1. GİRİŞ .....  | 1     |
| 1.1. Kuşlarda Kan Parazitleri ve Yükseklikle İlişkisi .....                 | 4     |
| 1.2. Kan Parazitlerinin Cins Bazında Sınıflandırılması .....                | 5     |
| 1.3. Kuşlarda Görülen Kan parazitlerinin Yaşam Döngüsü ve Morfolojisi ..... | 6     |
| 1.3.1. Haemoproteidae Ailesine Ait Cinslerin Yaşam Döngüleri .....          | 6     |
| 1.3.2. Plasmodiidae Ailesine Ait Cinslerin Yaşam Döngüleri .....            | 8     |
| 1.3.3. Garniidae Ailesine Ait Cinslerin Yaşam Döngüleri .....               | 10    |
| 1.3.4. Leucocytozoidae Ailesine Ait Cinslerin Yaşam Döngüleri .....         | 11    |
| 1.4. Çalışmanın Amacı ve Hipotezi .....                                     | 12    |
| 2. MATERYAL VE YÖNTEM .....   | 14    |
| 2.1. Arazi Çalışmaları .....  | 14    |
| 2.1.1. Çalışma Alanının Özellikleri .....                                   | 14    |
| 2.1.2. Arazi Çalışmaları ve Örnekleme .....                                 | 15    |
| 2.2. Laboratuvar Çalışmaları .....  | 18    |
| 2.2.1. DNA İzolasyonu .....   | 18    |
| 2.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu .....                                    | 20    |
| 2.2.3. Örnekler İçin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) .....                | 23    |
| 2.2.4. Agaroz Jel Hazırlama ve Görüntüleme .....                            | 24    |
| 2.3. Verilerin Değerlendirilmesi .....                                      | 26    |
| 3. ARAŞTIRMA BULGULARI .....  | 29    |
| 3.1. Arazi Çalışmalarında Elde Edilen Bulgular .....                        | 29    |
| 3.2. Filogenetik Ağaçların Karşılaştırılması ve Analizi .....               | 36    |
| 4. TARTIŞMA .....   | 50    |
| 5. SONUÇ .....  | 53    |
| KAYNAKLAR .....   | 54    |
| ÖZGEÇMİŞ .....  | 60    |

## ŞEKİL DİZİNİ

|  | Sayfa |
|--|-------|
| Şekil 1.1. Ana kuş göç yolları haritası .....  | 2     |
| Şekil 1.2. Kuşlarda görülen kan parazitlerinin sınıflandırılması .....   | 6     |
| Şekil 1.3. Kuş haemosporidianların yaşam döngüleri .....   | 7     |
| Şekil 1.4. Soldaki Haemoproteus cinsinin vektörü <i>Culicoides nubeculosus</i> ; sağdaki diğer bir Haemoproteus cinsinin vektörü Hipoposcid cinsinden <i>Pseudolynchia canariensis</i> ..... | 8     |
| Şekil 1.5. Kuşlarda sıtma parazitinin vektörü <i>Culex pipiens</i> .....   | 9     |
| Şekil 1.6. Kuş sıtma parazitlerinin yaşam döngüsünün şematik gösterimi .....   | 10    |
| Şekil 1.7. Leucocytozoitlerin vektörü kan emici Simuliid sinek (Rubtsov ve Yankovsky, 1984) .....  | 11    |
| Şekil 1.8. Leucocytozoitlerin yaşam döngüsü (Leucocytozoon simondi) .....  | 12    |
| Şekil 2.1. Çalışma Alanı olarak belirlenen Kazdağı Milli Parkı'nın konumu .....  | 14    |
| Şekil 2.2. Çalışma alanı olarak belirlenen Kazdağı Milli Parkı'nın konumu .....  | 15    |
| Şekil 2.3. Örneklerin yakalanması ve japon ağından çıkartılması .....  | 16    |
| Şekil 2.4. Arazi çalışmaları, örneklerin morfometrik forma yazılması, kan alımı ve yakalanan bazı küş türleri .....  | 17    |
| Şekil 2.5. MAKÜ, Moleküler Ornitoloji Laboratuvarının genel görüntüsü .....  | 18    |
| Şekil 2.6. PCR ürününün agaroz jelde yürütülmesi sonucu .....  | 22    |
| Şekil 2.7. DNA'ların elektroforez sonrası fotoğrafı .....  | 25    |
| Şekil 2.8. İkinci PCR işlemi sonucu Jel Elektroforez Görüntüsü .....   | 26    |
| Şekil 2.9. Elde edilen sekans sonuçlarına ait pikler .....   | 27    |
| Şekil 2.10. BioEdit Sequence Alignment Editor programında dizilerin alt alta yapılan alignmentleri .....   | 27    |
| Şekil 3.1. Parahaemoproteus <i>Haemoproteus sp.</i> ve <i>Plasmodium sp.</i> ) cinslerinin yükseklik prevelansları .....   | 33    |
| Şekil 3.2. Leucocytozoon cinslerinin yükseklik prevelansları .....   | 34    |
| Şekil 3.3. Haemosporidian cinslerine ait örneklerin MalAvi Örnekleri ile karşılaştırılması .....   | 37    |
| Şekil 3.4. Parahaemoproteus cinsine ait örneklerin MalAvi örnekleri ile karşılaştırılması .....  | 38    |

|  |    |
|--|----|
| <b>Şekil 3.5.</b> Leucocytozoon cinsine ait örneklerin MalAvi örnekleri ile karşılaştırılması .....                                    | 39 |
| <b>Şekil 3.6.</b> Parahaemoproteus cinsine ait örneklerin yükseklikle ilişkisi .....   | 41 |
| <b>Şekil 3.7.</b> <i>Leucocytozoon</i> cinsine ait örneklerin yükseklikle ilişkisi .....   | 43 |
| <b>Şekil 3.8.</b> Yeni bulunan haplotiplerin MalAvi veri tabanındaki örneklerle MEGA X programında filogeneik ağacının çizilmesi ..... | 49 |





## ÇİZELGE DİZİNİ

|  |    |
|--|----|
| <b>Tablo 2.1.</b> Çalışmada kullanılan primerler ve referansları .....                                     | 20 |
| <b>Tablo 2.2.</b> Gradient PCR için hazırlanan numunelerin miktarları .....                                | 21 |
| <b>Tablo 2.3.</b> Gradient PCR için ısı döngü aralıkları.....  | 21 |
| <b>Tablo 2.4.</b> Kullanılan PCR mix.'in Hazırlanışı.....  | 22 |
| <b>Tablo 2.5.</b> Birinci PCR aşaması .....  | 23 |
| <b>Tablo 2.6.</b> İkinci PCR Aşaması.....  | 24 |
| <b>Tablo 3.1.</b> Arazi çalışmasında yakalanan kuş türleri ve yüksekliğe bağlı dağılımı .....              | 29 |
| <b>Tablo 3.2.</b> Elektroforez sonucuna göre Parahaemoproteus cinsinin yüzdellik prevalansı ...            | 30 |
| <b>Tablo 3.3.</b> Elektroforez sonucuna göre Leucocytozoon cinsinin yüzdellik prevalansı .....             | 31 |
| <b>Tablo 3.4.</b> Elektroforez sonucuna göre yüksekliğe bağlı parazitlerin yüzdellik prevalansı.           | 32 |
| <b>Tablo 3.5.</b> En az iki yükseklik alanında olacak şekilde seçilen türlerin yüzdellik değerleri         | 35 |
| <b>Tablo 3.6.</b> Leucocytozoon cinslerinin birbirleri arasındaki etkileşimi.....                          | 35 |
| <b>Tablo 3.7.</b> Cinslerin yükseklikler arasındaki farkı .....  | 36 |
| <b>Tablo 3.8.</b> Kan Parazitlerinin GenBank veri tabanı ve MalAvi veri tabanı ile karşılaştırılması ..... | 44 |
| <b>Tablo 3.9.</b> Yeni bulunan haplotiplerin yüzdellik değerleri.....                                      | 48 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                        |  |
|------------------------|--|
| <b>bp</b>              | :Baz Pair (baz çifti)                          |
| <b>Cyt-b</b>           | :Sitokrom- b                                   |
| <b>dH<sub>2</sub>O</b> | :Distile su                                    |
| <b>DNA</b>             | :Deoksiriboz Nükleik Asit                      |
| <b>MAKÜ</b>            | : Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi               |
| <b>MalAvi</b>          | :Malaria Avian                                 |
| <b>mtDNA</b>           | :Mitokondrial DNA                              |
| <b>m</b>               | :Metre   |
| <b>NCBI</b>            | :National Center for Biotechnology Information |
| <b>PCR</b>             | :Polimeraz Zincir Reaksiyonu                   |
| <b>SPSS</b>            | :Statistical Package for the Social Sciences   |
| <b>sp.</b>             | :Species                                       |
| <b>UV</b>              | :Ultraviyole                                   |
| <b>µl</b>              | :Mikrolitre                                    |

# ÖZET

## Yüksek Lisans Tezi

### Balıkesir, Kazdağı Milli Park'ındaki Ötücü Kuşların Yüksekliğe Bağlı Kan Parazitlerinin Moleküler Düzeyde Araştırılması

Tuğba TUNÇEL

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Tamer ALBAYRAK

Temmuz, 2019

Kuş kan parazitlerinde yapılan araştırmalar parazit tanımlanması için kullanılan PCR bazlı moleküler metotların kullanılmasından bu yana kayda değer bir artış göstermiştir. Çalışmanın amacı farklı yükseklik aralıklarında ötücü kuşlarda bulunan kan parazitlerinin soy çeşitliliğini moleküler yöntemler ile belirlemek ve yüksekliğin kan parazitleri üzerine etkisini araştırmaktır. Ötücü kuşlardan düşük irtifa (0-400m) da otuz birey, orta irtifa (500-800) da otuz bir, yüksek irtifa (1200-1600m) da otuz bir birey olmak üzere üç farklı yükseklik alanından kan örnekleri toplanmıştır. *Leucocytozoon* cinsi üyelerinin yükseklikle negatif bir korelasyona sahip olduğu görülse de bu istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p>0,05$  ve  $r=-0,073$ ). *Haemoproteus* ve *Plasmodium* cinslerini içeren Parahaemoproteus da ise yükseklik arttıkça parazit prevalansı artmış ve istatistiksel olarak pozitif bir korelasyon görülmüştür (Düşük irtifa: % 63,33, orta irtifa: % 70,97 ve yüksek irtifa: % 96,77;  $p< 0.05$ ,  $r=0,398$ ). DNA dizi sonuçlarının GenBank veri tabanı ile MalAvi veritabanı karşılaştırılması yapılmış olup tez çalışmasında elde edilen haplotiplerin % 42,19'u bilim dünyası için ilk kez tanımlanması sağlanmıştır..

**Anahtar Kelimeler:** kan paraziti, yükseklik, *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, *Haemoproteus*, ötücü kuşlar, moleküler yöntem

Hazırlanan bu Yüksek Lisans Tezi BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri) tarafından **0292-YL-16** proje numarası ile desteklenmiştir.

## SUMMARY

M. Sc. Thesis

**Altitudinal Affects Prevalence of Haemosporidian Parasite of Songbirds in The  
Kazdagı National Park, Turkey**

**Tuğba TUNÇEL**

**Burdur Mehmet Akif Ersoy University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology**

**Supervisor: Prof. Dr. Tamer ALBAYRAK**

**July, 2019**

Research in avian blood parasites has seen a remarkable increase since the introduction of polymerase chain reaction-based methods for parasite identification. The objectives were to determine the lineage diversity of parasites occurring across the study. Songbirds are caught in three different altitudinally area, thirty individuals of the first altitude area (Low altitude;  $\approx$  400 m), thirty-two individuals from the second altitude area (Midle altitude;  $\approx$  800 m) and thirty-one individuals from the third altitude area (High altitude;  $\approx$  1600 m). High levels of *haemosporidians* (*Haemoproteus sp.* and *Plasmodium sp.*) prevalence (88-96%) were found across all of the study populations with no significant altitude effect. Leucocytozoon strains have negative correlation with heigh. *Haemosporidians* parasites more at high altitude increasing (Low altitude= 63,33%, Midle altitude= 70,97%, High altitude= 96,77%) ( $p < 0,05$ ). The comparison of the results of the sequence with the Genbank database and the Malavi database was stuck. The results obtained in the study haplotypes were identified for the first time in the world of science 42.19%.

**Keywords:** blood parasite, altitude, leucocytozoon, haemosporidians, songbird, molecular, Kazdagı

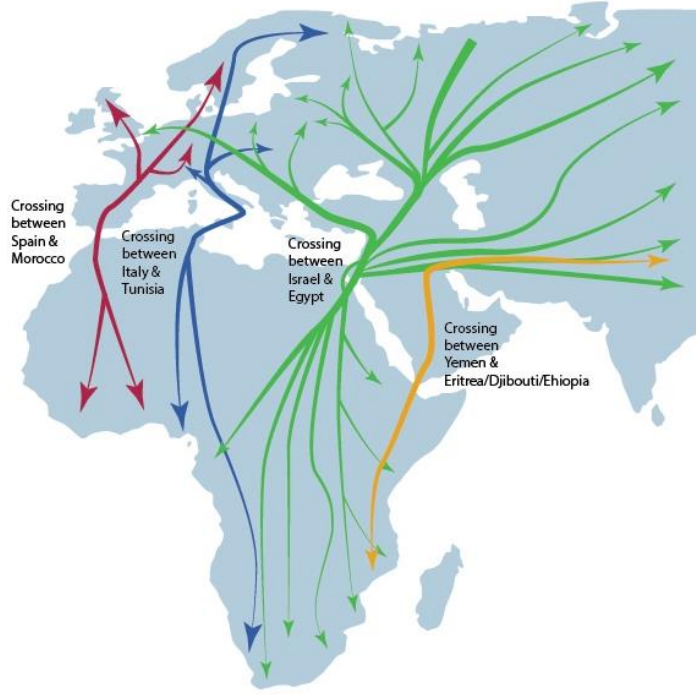
The present M.Sc. thesis was supported by Mehmet Akif Ersoy University, Scientific Research Projects Coordinator under the project no of **0292-YL-16**.

# 1. GİRİŞ

“Türkiye değişik coğrafik ve iklimsel koşullarla oluşan birçok farklı mikro ve makro habitatlar içermektedir. Aynı zamanda Türkiye coğrafi konumu, topoğrafyası, iklimi ve içerdiği habitat yapıları nedeni ile biyolojik çeşitliliği yüksek bir bölgedir. Ayrıca Avrupa Sibiryaya, Akdeniz ve İran Turan fitocoğrafik bölgeleri ile bunların ikisinin kesiştiği bir bölgede yer alır (Çıplak, 2003; Demirsoy, 1999). Avrupa ve Asya kıtaları arasında bir köprü görevi görmesi neticesinde geçmiş buzul devirlerinde kuzey-güney fauna ve florasının yayılmasına olanak sağlamış ve bazı türler için de sığınak görevi görmüştür (Albayrak, 2011; Albayrak vd., 2012; Kabasakal ve Albayrak, 2012).

Türkiye avifaunası hakkında her geçen gün tür sayısı değişmekle birlikte birçok çalışma bu konuya değinmiştir. Turan (1990) 421, Çanakçıoğlu (1996) 418 kuş türünün bulunduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte, Baran ve Yılmaz (1984) düzenli olarak görülen tür sayısının 376, Barış (1989) 371 olduğunu çalışmasında bildirmiştir. Kirwan vd. (1999) Türkiye’de 453 kuş türünün bulunduğunu, bu türlere 12 türün daha ilave edilmesi ile birlikte sayının 465’e kadar çıkabileceğini belirtmişlerdir. Yine Barış (2000)’a göre, Türkiye’de toplam 67 familyadan 453 kuş türünün bulunduğu kabul edilmekte, bunların 394’ü düzenli olarak görülmekte ve 304 türün üremekte olduğunu bildirmiştir. Kızıroğlu (2009)’a göre 502 ve Kızıroğlu (2015)’na göre ise 513 kuş türünün Türkiye’de gözlemlendiğini bildirmiştir.

Kuş türleri açısından mevcut çeşitliliğin en temel sebepleri olarak; Palearktik bölgenin bir bölümünü teşkil eden ülkemizin Avrupa, Asya ve Afrika kıtaları arasındaki kuş göç yolları üzerinde bir köprü görevi görmesi, coğrafik konumundan dolayı farklı iklim koşullarına ve değişik yaşama ortamlarına sahip olması, büyüklük ve ekolojik özellikleri farklı, toplam 119 önemli sulak alana sahip olması gösterilebilir (Kızıroğlu, 1989). Türkiye, kuşların ilkbaharda güneyden kuzeye, sonbaharda da kuzeyden güneye göçü sırasında göç yollarının tam ortasında kalır. Avrupa ve Batı Asya kuşları göç etmek için doğal darboğazları kullanırlar. Türkiye’de İstanbul Boğazı, Çoruh Vadisi ve Hatay Belen Geçidi, İtalya’da Messina Boğazı ve Malta, İspanya’da ise Cebelitarık Boğazı üzerinden geçerek Afrika kıtasına ulaşırlar (Şekil 1.1) (Cırık, 2005).



**Şekil 1.1.** Ana kuş göç yolları haritası

([www.wysinfo.com/Migratory\\_Birds/Migratory\\_Birds\\_Without\\_Boundaries.htm](http://www.wysinfo.com/Migratory_Birds/Migratory_Birds_Without_Boundaries.htm))

Kuşlarda kan parazitleri (*Haemosporidian spp.*) 20. yüzyılın başından itibaren önemli bir araştırma konusu olmuştur. Kuşlarda görülen *Haemosporidian spp.* çok yaygın olduğu ve kuş türü içerisindeki oranının ise yaklaşık % 68 olduğu tahmin edilmektedir (Scaglione vd., 2015). Parazitlerin dağılımı ve çeşitliliğini sebep olan faktörlerin belirlenmesi hastalık etmenlerini anlamak ve tahmin etmek için önemlidir. Enlem, yükseklik, sıcaklık, yağış ve suya yakınlık gibi çevresel faktörler sıtmanın (*Plasmodium spp.*) etmenleri ve yayılması ile ilişkilidir (Lapointe vd., 2012). Bu parazitler kan emen dipteran böcekler tarafından bulaşır. Sivrisinekler (*Culicidae*) *Plasmodium sp.* türlerinin vektörü, *Ceratopogonidae* ve *Hippoboscidae* sinekler *Haemoproteus sp.* türlerinin vektörüdür. Leucocytozoon cinsinin vektörleri ise kan emici simuliid cinsi sivrisineklerdir. Bu konakçılar, kan parazitlerini belirleyen etmenlerdendir ve yükseklik arttıkça konakçıların popülasyonunun da azalma görülmektedir (Marzal vd., 2011). Moleküler tekniklerin gelişmesi ile mitokondrial *cyt b* geni kullanılarak *Haemosporidians* cinsi parazitler ile ilgili çalışmalarda artış ve daha fazla türün tanımlanması sağlanmıştır (Ivanova vd., 2015).

Vektör olan sinekler tarafından taşınan Haemosporidian (*Haemoproteus*, *Plasmodium*, *Leucocytozon*) cinsleri amfibiler, sürüngenler, kuşlar, memelilerde yaşamlarını sürdürmektedirler. Ilık iklime sahip ülkelerde yaygın olarak insanlarda görülen sıtma etkeni olan haemosporidianlar parazitik protistlerin en iyi bilinen ve iyi çalışılmış gruplardan biri olduğu söylenebilmektedir. Kuşlarda görülen *Haemoproteus* (*Haemosporida: Haemoproteidae*) cinsine ait kan parazitinin morfolojik olarak tanımlanmış 130' un üzerinde türü vardır (Valkiunas, 2004). Ancak moleküler veriler tür sayısının önemli ölçüde daha yüksek olabileceğini düşündürmektedir. Kuşlardaki görülen *Plasmodium*, *Haemoproteus* ve *Leucocytozon* cinslerine ait türlerin teşhislerinin morfolojik olarak zorluğu nedeniyle son 10 yıldan günümüze çeşitli moleküler teknikler ile bu sorunun çözülmesine gidilmiştir (Bensch, 2009). Haemosporidian parazitlerinin çeşitliliğini belirlemede ki mikroskopi çalışmaları göz ardı edilerek moleküler düzeyde çalışmalar giderek artmıştır (Lutz vd., 2015).

Dünyadaki kuş türlerinin %55'i için kan parazitlerinin dağılımı henüz bilinmemekte (Valkiunas, 2004) ve biyoçeşitliliğin fazla olduğu Anadolu gibi geniş Asya bölgeleri kuş kan parazitleri açısından çok fazla çalışılmamıştır.

Coğrafik varyasyonlar parazitte ki bolluğu ve konukçu-parazit arasındaki etkileşimler evrimsel açıdan önemlidir (Anderson ve May, 2006). Anadolu da yapılan moleküler temelli ilk çalışma (Marzal ve Albayrak, 2012)'a aittir. Bu çalışma Anadolu da yayılım gösteren *Anadolu sivacısı* türünde haemosporidian enfeksiyonu, parazit prevalansı ve çeşitliliğindeki coğrafi farklılıkları belirlemiştir.

Kuş-patojen arasındaki etkileşimlerin bağışıklık ve virülans çalışmaları son zamanlarda önemli bir ilgi kazanmıştır. Bunun sebebi insan hastalıklarında yeni bir risk oluşturabilmesi ve uzun vadeli değişen iklim koşullarının biyolojik göstergeleri olmasıdır (Reed vd., 2003). Birçok çalışma, haemosporidian parazitlerin coğrafi olarak ayrılan konakçı popülasyonları arasındaki ve aynı konakçı popülasyonu arasındaki yaygınlık ve çeşitlilikteki farklılıkları belgelemiştir (Chasar vd., 2009; Knowles vd., 2011; Loiseau vd., 2010). Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada Avrupa'nın farklı bölgeleri ve habitatlarındaki coğrafi farklılar ele alınmıştır. Ancak Anadolu yarımadası gibi pek çok farklı Asya bölgesi çok az ilgi görmüştür. Ayrıca Dünya'daki kuş türlerinin %55'i için haemosporidian dağılımı bilinmemektedir (Valkiunas, 2004).

## 1.1.Kuşlarda Kan Parazitleri ve Yükseklikle İlişkisi

Parazit tespiti için moleküler temelli metotlar alanındaki (PCR) ilerlemeler, kan parazitlerinin soy tipinde tanımlanmasına ve dolayısıyla parazit topluluklarının karakterizasyonuna olanak sağlamıştır. Parazit tanımlanmasında moleküler teknikler geliştirilerek 860'ın üzerinde parazit türü mitokondriyal DNA'nın sitokrom b (*mt-cyt b*) geninde bulunan varyasyonlarla tanımlanmıştır (Bensch vd., 2009).

Son 10 yıl içerisinde kuş sıtma parazitleri ve Haemosporidianlar ile ilgili çalışmalarda, kuş kanından oluşturulan DNA örnekleri üzerinden yapılan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknikleri büyük ilgi görmektedir. Kuş haemosporidianları için ilk PCR tabanlı çalışma Hawaii'deki kuşlar üzerinde yapılmıştır (Feldman vd., 1995). Plasmodium parazitleri için 18S RNA için primerler kullanılarak çalışılmıştır. Ancak bu çalışma sadece Plasmodium cinsinin küçük bir grubu için yapılmıştır. İlk *mt-cyt b* protokolü yayımlandıktan sonra üç ana çalışma (Ricklefs ve Fallon, 2002; Susan L vd., 2002; Waldenstrom vd., 2002) haemosporidianlar için ekolojik ve evrimsel süreçleri ile ilgili önemli bilgiler kaydetmişlerdir. Bu çalışmalarla birlikte kuşlarda kan parazitleri moleküler çalışma alanlarını genişletmeye başlamıştır. Bu araştırmalar öncü olduktan sonra altmıştan fazla yayın *cyt b* geninin moleküler analizlerini kullanarak kan parazitlerinin taksonomisi, sistematiği, ekolojisi, biyocoğrafyası ve evrimi ile ilgili büyük ölçüde gelişmeler sağlamıştır (Bensch vd., 2009).

Kan emen dipteranlar ayrıca Plasmodium ve Leucocytozoon parazitlerinin de vektörleridir. Doğal populasyonlar için vektörler hakkında kesin bilgi azdır, ancak laboratuvar çalışmaları *Culex*, *Aedes* ve *Culiseta* cinsinden dişi sivrisineklerin kuş *Plasmodium sp.* parazitlerinin vektörleri olduğunu göstermiştir (Valkiunas, 2004).

Savage vd. (2009)'e göre Madagaskar'da bulunan 26 familyadan 64 türe ait kuştan kan örneği alınarak preparat hazırlanmıştır. Işık mikroskobu altında kan paraziti tespiti yapılmıştır.

Valkiunas ve Iezhova, (2018) 'un un yaptığı çalışmaya göre; kuşlar genellikle vahşi doğada aynı ve farklı cinslere ait farklı kan parazitleriyle enfekte edilmektedir. Farklı parazit enfeksiyonlarının çeşitli kombinasyonları sıklıkla aynı bireysel konaklarda çıkmaktadır. Haemosporidianlar hücre içinde gelişmekte ve bu özelliği ile diğer ökaryotik hücre içi parazitlerden ayrılmaktadır. Haemosporidianlar özellikle kolayca ayırt edilebilen bir özellik nedeniyle diğer tüm hücre içi protistlerden (*Babesia*, *Isospora*, *Lankesterella*, *Haemogrerina*, *Hepatozoon*, *Toxoplasma* cinsinin türleri) kolayca ayırt edilebilmektedir.



Tüm haemosporidianlar ışık mikroskobu altında kolayca gözlenen fiziksel özellikler ile ayırt edilebilmektedir. Ancak parazit türlerinin mikroskop altında tespiti için hazırlanan preparatların kalitesi önemli etmendir. Örneklerin kurutulması, sabitlenmesi ve boyanması kalitesiz olduğunda türlerin tanımlanması yetersiz olabilmektedir.

Laird, (2011)'in Van Riper (1986) alıntısıyla yapılan çalışmada kuş kan preparatları hazırlayarak mikroskop altında enfekte durumlarını yükseklik ile ilgili kuşlarda haemosporidian prevelansını belirlemek için yaptıkları araştırmada Hawaii adalarının orman kuşlarında en yüksek *Plasmodium sp.* prevelansı 1000-1300 m aralığındaki yerleşim yerinde ve 800-1250 m aralığındaki kuru nemsiz bölgeler çalışılarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak çok sayıda çalışma özellikle göçmen türlerdeki enfeksiyonuna vurgu yaparak (Ortego vd., 2007; Szöllosi vd., 2011) haemosporidian türlerinin çeşitliliğini ve dağılımını çalışmaya odaklanmıştır (Santiago-Alarcon vd., 2011; Waldenstrom vd., 2002).

Orman kuşlarında kuş sıtması parazitinin yüksek irtifada görülme sıklığı ve yerel yayılmasının düşük oranda olduğu görülmektedir (Feldman vd., 1995; Freed vd., 2005; Laird, 2011; Woodworth vd., 2005). Ayrıca sivrisineklerdeki parazit durumu 900 m'nin üzerinde sabit oranda azalmaktadır ve enfekte sivrisineklerin 1600 m'nin üzerinde toplanma alanları bulunmamaktadır (Fonseca vd., 2000; Freed vd., 2005). Yükseklik ile beraber sıcaklığın etkisi de göz önünde bulundurulmalıdır. Sıcaklığın *Plasmodium spp.*'nin sporogonik gelişimi üzerinde derin etkisi bir asırdan fazladır tanınmaktadır (Garnham, 1966; Valkiunas, 2004).

LaPointe vd. (2010) nin yapmış olduğu Hawaii Adası'nda yaptığı çalışmada; çoğu yerli Hawaii kuş türünün yüksek rakımlı ormanlarda en yüksek yoğunluk ve çeşitliliğe ulaştığı görülmüştür. *Plasmodium relictum* türünün gelişimi için yüksekliğin yanında uygun sıcaklık belirlenip yerli kuş türlerinin mevcut dağılımı değerlendirilmiştir. Parazitin sporogonik gelişimi laboratuvar ortamında tamamlandıktan sonra ortalama sıcaklığın 30 ile 17 derece arasında olduğu ancak gelişmesi için gerekli sıcaklığın 21 derecenin altında olduğu tespit edilmiştir. Gelişme için gerekli uygun sıcaklık Hawaii de bulunan Maui ve Hawaii adalarındaki yüksek orman rakımlarına karşılık geldiği tespit edilmiştir.

## **1.2.Kan Parazitlerinin Cins Bazında Sınıflandırılması**

Aşağıda belirtilen gruplar içerisinde yer alan alt cinsler birçok uzman tarafından (Atkinson ve Van Riper III, 1991; Bennett, vd., 1992; Bennett ve Peirce, 1988; Dessler ve Bennett, 1993; Morii, 1992) kabul edilmektedir (Şekil 1.2)Bu cinslerin yaşam döngüleri ve

İlgili çalışmaları diğerlerine göre geniş yer kaplamaktadır. Bu durum bu cinsler için çalışmaları kolaylaştırmakta ve tanımlanmasını sağlamaktadır (Valkiunas, 2004).

Şube: SPOROZOA

Sınıf: COCCIDEA

Alt Sınıf: COCCIDIA

Takım: HAEMOSPORIDA

1. Aile: HAEMOPROTEIDAE

Cins: Haemoproteus

Alt Cins: Parahaemoproteus

Alt Cins: Haemoproteus

2. Aile: PLASMODIIDAE

Cins: Plasmodium

Alt Cins: Haemamoeba

Alt Cins: Giovannolaia

Alt Cins: Novyella

Alt Cins: Bennetina

Alt Cins: Huffia

3. Aile: GARNIIDAE

Cins: Fallisia

Alt Cins: Plasmodioides

4. Aile: LEUCOCYTOZOIDAE

Cins: Leucocytozoon

Alt Cins: Leucocytozoon

Alt Cins: Akiba

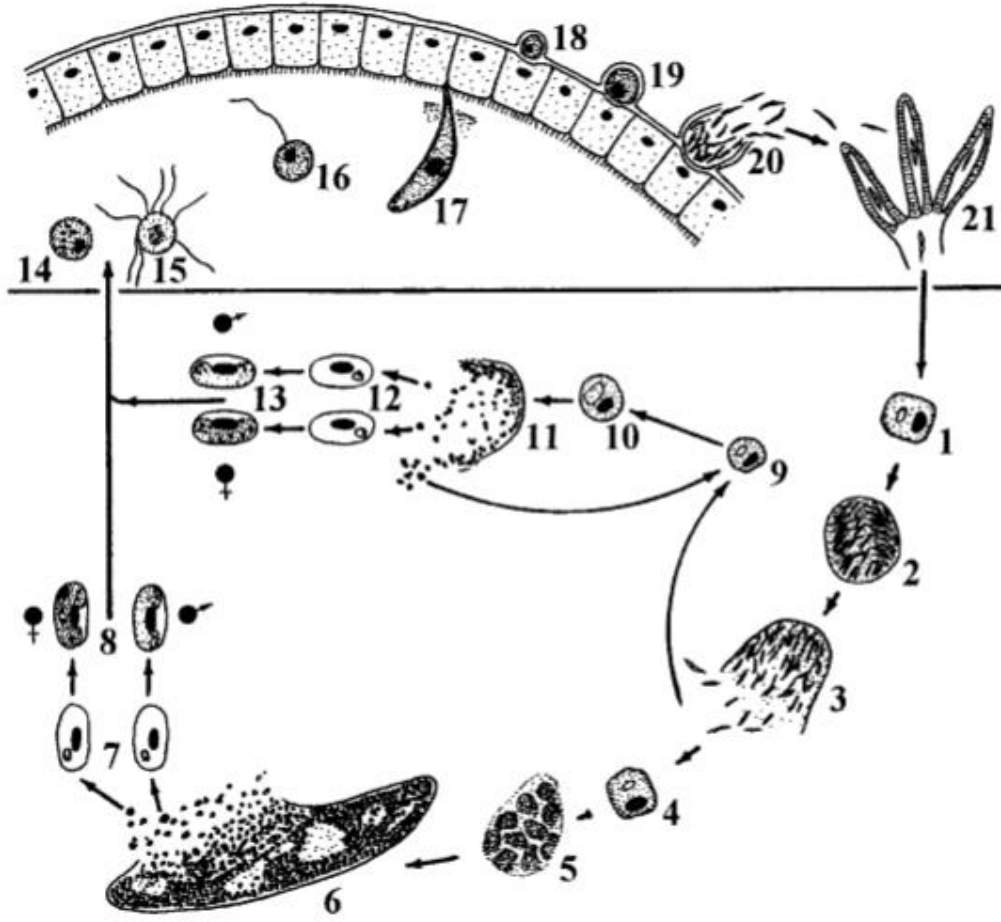
Şekil 1.2. Kuşlarda görülen kan parazitlerinin sınıflandırılması

### 1.3. Kuşlarda Görülen Kan parazitlerinin Yaşam Döngüsü ve Morfolojisi

#### 1.3.1. Haemoproteidae Ailesine Ait Cinslerin Yaşam Döngüleri

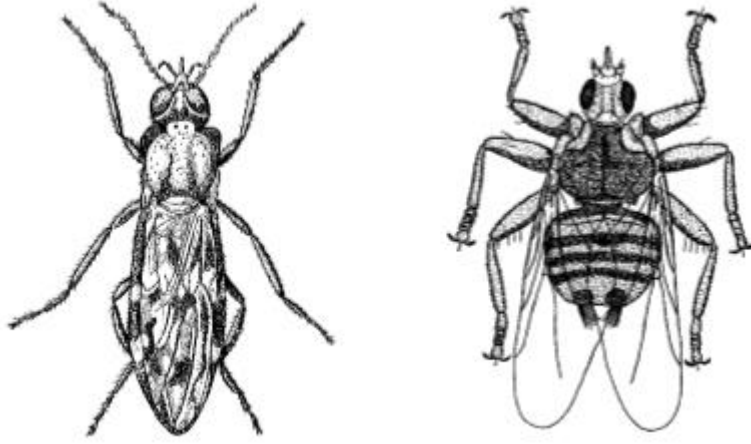
Haemosporidianlar kuşların ve diğer omurgalıların ortak parazitlerini kapsamaktadır. Sporogoni sürecinin yaşandığı Hematofagus dipteran böcekler tarafından bulaşmaktadır. Zigot, oosit ve ookinet sivrisinek vektöründe gelişmektedir (Garnham, 1966). Dipteran böcek ile temas sonucu yüzlerce sporozoit, canlıya geçmektedir. Bir kuş üzerinde kan emerek enfekte olan gametositler mikrogametlerin gelişmesini sağlayan hızlı bir dönüşüm geçirmektedirler (Valkiunas, 2004).

Kuş popülasyonu çalışmalarında Haemosporidianların yaşam döngüleri heterojen ve karmaşık yapıya sahiptir (Şekil 1.3). Gelişimleri sırasında ev sahiplerini ve üreme yollarını değiştirmektedirler. Parazitler kuşlar ve kan emici dipteran böcekler arasında gelişmektedirler. Cinsel süreç vektörlerde gelişmekte olup kuşlar ara konakçıdır. Tatarcık sinekleri (Diptera: Ceratopogonidae) ve hipoposcid sivrisinekleri (Hippoboscidae) kuş kan parazitlerinin vektörleridir (Şekil 1.4) (Valkiunas, 2004).



**Şekil 1.3.** Kuş haemosporidianların yaşam döngüleri

1-Endotel hücrelerindeki sporozoit; 2, 3- birinci kuşak olan merozoitlerin dışarıya çıkışı; 4- endotel hücrelerinde merozoit; 5,6- olgun megamerontların kas hücrelerinde gelişmesi; 7- eritrositlerde merozoitler; 8- olgun gametositler; 9- dalakta retikuloendotelial hücrede merozoit; 10,11- dalakta büyüyen ve olgun meronts sırasıyla; 12- eritrositlerde merozoitler; 13- olgun gametositler; 14- makrogamet; 15- Bir insan periferik kan yaymasında sıtma ekstrüzyonu; 16- döllenmiş makrogamet; 17- peritrofik zara temas eden ookinet; 18- genç oosit; 19,20- sporogoni; 21- vektörün tükürük bezlerinde bulunan sporozoit



**Şekil 1.4.** Soldaki Haemoproteus cinsinin vektörü *Culicoides nubeculosus*; sağdaki diğer bir Haemoproteus cinsinin vektörü Hipoposcid cinsinden *Pseudolynchia canariensis*

### 1.3.2. Plasmodiidae Ailesine Ait Cinslerin Yaşam Döngüleri

Sıtmaya neden olan Plasmodiidae ailesi kuş sıtma parazitlerinin yaşam döngüleri hakkında genel bilgi; 1930’larda, 1950’lerde bu protistlerin insan sıtmasını incelemek için deneysel laboratuvar modeli olarak kullanılmasıyla elde edilmiştir. Aynı dönem ve daha önceki dönemlere ait kuşların sıtma paraziti ile ilgili veriler Garnham, (1966) tarafından geliştirilmiştir. Daha sonrası kuş sıtma paraziti çalışan bilim insanları, insanlara sıtma paraziti olarak daha yakın olan kemirgenlerde bulunan sıtma parazite yönelmesiyle kuş sıtma parazite olan ilgi önemli düzeyde azalmıştır. Bu nedenle birçok kuş sıtma paraziti türünün yaşam döngüleri ya parçalar halinde araştırılmış ya da hiç çalışılmamıştır (Valkiunas, 2004).

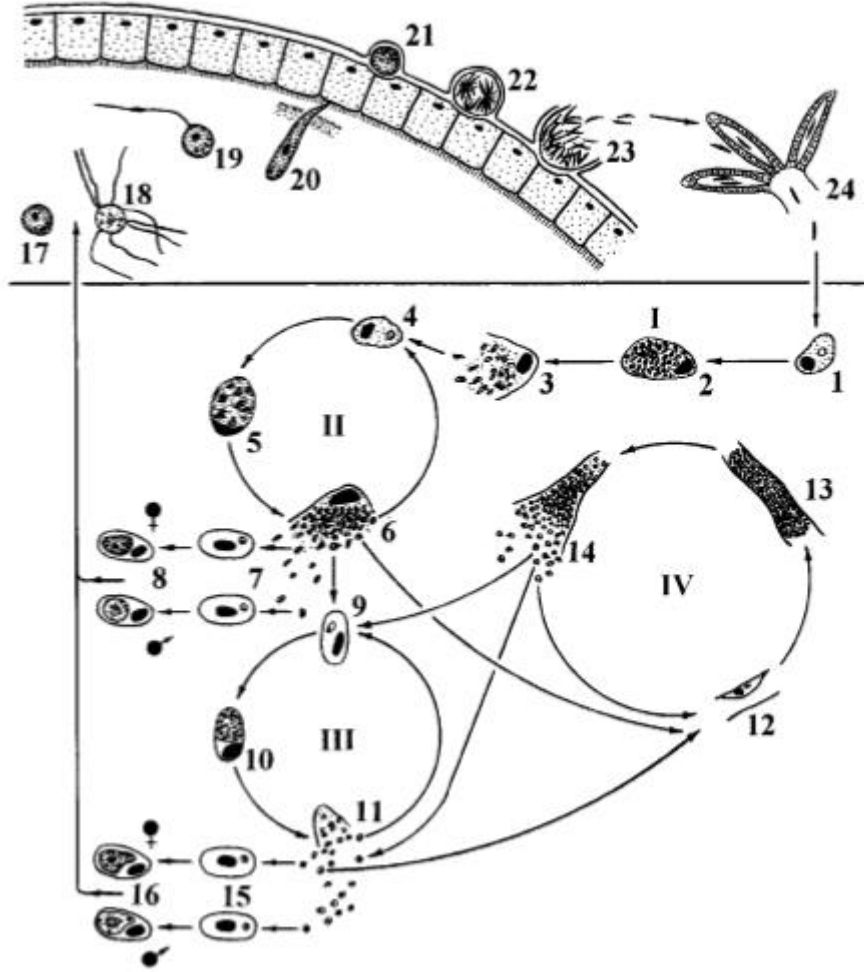
Kan emici sivrisinekler (Diptera: Culicidae), kuşların sıtma parazitlerinin vektörleridir. Sadece dişi türleri kanla beslenir ve enfeksiyonu yaymaya katkıda bulunmaktadır. Vektör türlerinin büyük kısmı *Culex*, *Aedes* ve *Culiseta* cinsine aittir (Şekil 1.5).Anopheles cinsinin sivrisinekleri de belirli parazit türlerinin vektörleridir (Valkiunas, 2004).



**Şekil 1.5.** Kuşlarda sıtma parazitinin vektörü *Culex pipiens*

Ekzoeritrositik meragonyum kılcal damarları kaplayan endotelyal hücrelerde, hemopietik ve lenfoid makrofaj sistemleri hücrelerinde bulunmaktadır. Gametositler olgun eritrosit hücrelerinde gelişmektedirler.

Aşağıdaki şemada sıtma parazitlerinin yaşam döngüsünün özellikleri, dünya genelinde geniş bir omurgalı grubuna dağılmış ve oldukça iyi çalışılmış *Plasmodium relictum* örneğinde gösterilmektedir. Yaşam döngüsünün genel şeması Şekil 1.6'da görülmektedir (Corradetti vd., 1970; Garnham, 1966).



Şekil 1.6. Kuş sitma parazitlerinin yaşam döngüsünün şematik gösterimi

(*Plasmodium relictum* örneği)

I,II- birincil ekzoeritrositik merogoni; III- eritrositik merogoni; IV- ikincil ekzoeritrositik merogoni; 1- retikulo endotelyal hücrede sporozoit; 2,3- kriptozoites; 4- makrofajda merozoit; 5,6- metakriptozoitler; 7- eritrositlerde merozoitler; 8- gametositler; 9- eritrositlerde merozoitler; 10,11- eritrositlerde merontlar; 12- endotel kılcak hücrelerinde merozoitler;13,14- fanerozoitler; 15- eritrositlerde merozoitler; 16- gametositler; 17- makrogametler; 18- kamçılı mikrogametler; 19- dölenmiş mikrogametler; 20- peritrofik zara temas eden ookinet; 21- genç oosit; 22,23- sporogoni; 24- vektörün tükürük bezlerinde bulunan sporozoitler

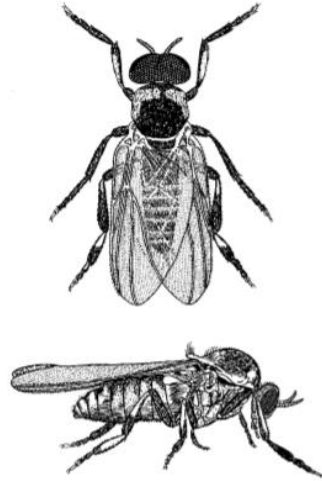
### 1.3.3. Garniidae Ailesine Ait Cinslerin Yaşam Döngüleri

Bu parazitlerin vektörleri henüz bulunamamıştır. Kabul edilen verilere göre; *Fallisia neotropicalis* sivrisinek türünün (Diptera: Culicidae) gelişimini tamamlaması sonucu göstereceği söylenmektedir. Ancak bunun için doğrulama gereklidir. Garniidae türlerinin çoğu sürüngenlerde gelişmektedir. Kuşlarda yalnızca *Fallisia neotropicalis* türü keşfedilmiştir (Gabaldon ve Zerpa, 1985).

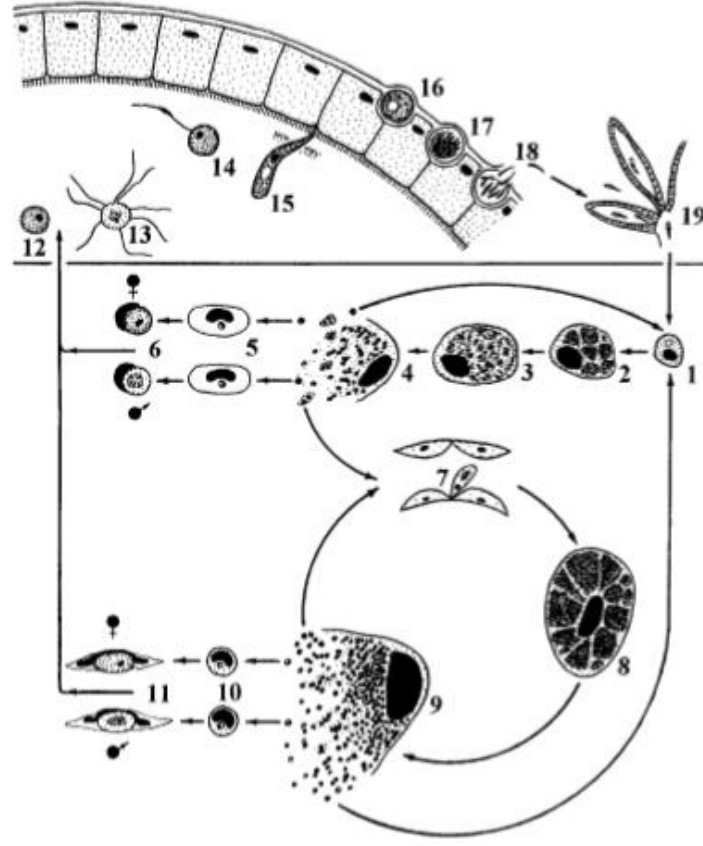
#### 1.3.4. Leucocytozoidae Ailesine Ait Cinslerin Yaşam Döngüleri

Leucocytozoitlerin yaşam döngüleri tarif edilen türlerin 1/3'ü kadarında incelenmiştir. Kan emici *Simuliid sp.* sinekler (Diptera: Simuliidae) bu parazitlerin vektörleridir (Şekil 1.7). Türlerden birisi (*Leucocytozoon caulleryi*) vektör olarak kan emici sinek (Ceratopogonidae familyası) kullanmaktadır. Kuşlardaki ekzoeritrositik merogonyum, karaciğer parankim hücrelerinde (hepatositler), makrofajlarda ve kılcal damarların endotel hücreleri de dahil olmak üzere diğer çeşitli retikülo endotelial hücrelerde meydana gelir. Gametositler, eritroblastlarda, eritrositlerde ve mononükleer lökositlerde gelişir. Kan hücrelerinde merogonyum oluşmaz (Valkiunas, 2004).

Aşağıdaki örnekte, pratikte büyük öneme sahip en iyi çalışılmış türlerden biri olan *Leucocytozoon simondi*'nin yaşam döngüsü incelenmektedir (Şekil 1.8). Bu parazitin genel gelişimi gösterilmiştir (Aikawa vd., 1970; Chernin, 1952; Desser, 1967; Eide ve Fallis, 1972; Garnham vd., 1968; Huff, 1942; Khan vd., 2008; Yang, 2008).



Şekil 1.7. Leucocytozoitlerin vektörü kan emici Simuliid sinek (Rubtsov ve Yankovsky, 1984)



Şekil 1.8. Leucocytozoitlerin yaşam döngüsü (Leucocytozoon simondi)

#### 1.4. Çalışmanın Amacı ve Hipotezi

Çalışmanın amacı Kazdağı Milli Parkı'nda yayılım gösteren ötücü kuşların yüksekliğe bağlı olarak kan parazitlerinin moleküler düzeyde tespit edilip, yükseklikle ilişkisinin belirlenmesi olup bu konuda eksik olan literatür bilgisine önemli bir kaynak oluşturmaktır. Bu çalışma ile Anadolu da yayılım gösteren ötücü kuşların kan parazitlerinin tespit edilmesi hem de kan parazitlerinin yükseklik ile olan ilişkisi belirlenecektir. Parazit belirlemede moleküler düzeyde çalışma yapılmıştır. Anadolu'da yapılan bu çalışma gelecek çalışmalar için örnek oluşturması bakımından önemlidir.

*Haemosporidianların yaşam döngüsünde görülen konakçı sivrineklerin sulak alanlarda çoğalması ve üremelerinin direkt sıcaklıkla ilişkili olması nedeniyle yükseklik arttıkça sıcaklığın azalması nedeniyle konakçıların daha az görülmesi ve buna bağlı olarak da kan paraziti görülme oranının düşmesi beklenmektedir. Kazdağı'nda yapılan bu çalışma sonucunda yükseklik arttıkça kuşlarda görülen kan parazitlerinin prevalansında azalmanın beklenmesi tezin hipotezini oluşturmaktadır.*



Bu alışma 0292-YL-16 nolu Bilimsel Araştırma Projesi tarafından desteklenmiştir ve Proje yürütücü ve tezin yüksek lisans danışmanlığını yapmakta olan Prof. Dr. Tamer Albayrak'ın yürütücülüğünü gerçekleştirdiği TUBİTAK 117O580 numaralı projenin desteği ile sonuçlandırılmıştır.



## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Arazi Çalışmaları

#### 2.1.1. Çalışma Alanının Özellikleri

Edremit Körfezi' nin doğu–batı yönünde yer alan Kazdağı denize 60 km kıyısı olan, iklimsel özellikleri ve zengin su kaynakları ile Balıkesir ilinin batısında bulunmaktadır (Şekil 2.1)

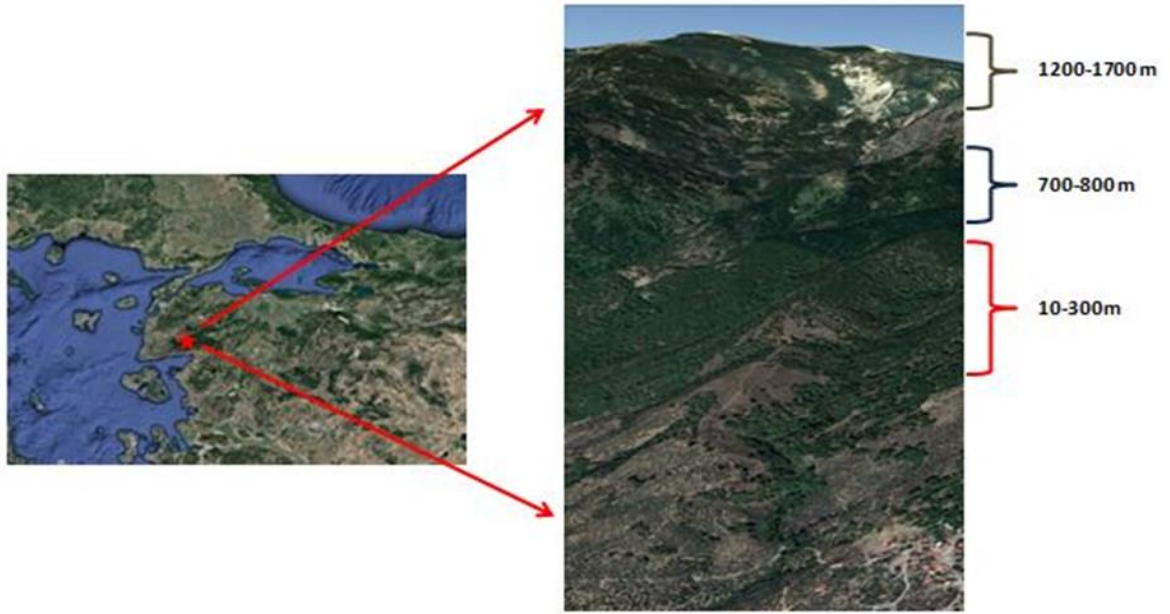


Şekil 2.1. Çalışma Alanı olarak belirlenen Kazdağı Milli Parkı'nın konumu

Kazdağı'nın güney yüzünde hâkim olan bitki topluluğu, alt seviyelerde (700-800 metrelere kadar) kızılçamlarla (*Pinus brutia*), üst seviyelerde ise (1400 metrelere kadar) karaçamlarla temsil edilen kurak iklim tipine ait ormanlardır. Sadece Kazdağı' nda bulunan Kazdağı Göknaarı 1988 yılında yasayla koruma altına alınmış primidal yapılı, iğne yapraklı, yaklaşık 30 m' ye kadar boylanabilen ağaçlardır. Güney yüzde özellikle etekler, kızılçam ve bu türün tahrip alanlarını kaplayan maki topluluğu ile tipik Akdeniz manzarası taşır. Buna karşılık zirve bölgesi ve civarlarında nemli iklim tipine ait ormanlar yayılış gösterir. Bu ormanların hâkim ağaç türleri yükseklerde göknar (*Abies equitrojani*), daha alt seviyelerde ise Karadeniz ikliminin karakteristik ağacı olan kayın (*Fagus orientalis*), sapsız meşe (*Quercus petraea*) ve macar meşesi (*Quercus frainetto*) dir (Balıkesir Şube Müdürlüğü, 2009).

### 2.1.2. Arazi Çalışmaları ve Örnekleme

Arazi çalışmaları Nisan 2016 tarihinde başlayıp 100 metrelik Japon ağları kullanılarak yakalama işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.3). Tez kapsamında üç farklı yükseklik aralıklarının da (0-400, 700-800, 1200-1700 metre) 30'ar bireyin yakalanması yapılmıştır (Şekil 2.2). Türlerin belirlenmesi için (Svensson, 2010) 'nın Collins Bird kitabı kullanılmıştır. Yakalama yapılan bireylerin morfometrik özellikleri (kütle, kanat, gaga boyu, kafa arkası-gaga ucu, gaga yüksekliği, 8. primer, gaga eni, gaga burundan, kuyruk, alula, tarsus) kumpas, cetvel yardımıyla ölçümleri alınıp hassas terazi ile kütlesi tartıldıktan sonra bütün ölçüm kayıtları arazi formlarına işlenmiştir (Şekil 2.4). Yakalanan bireylerden genetik çalışması için 70 µl kan alınarak EDTA çözelti karışımına ya da %96'lık alkol bulunun saklama tüplerine konulmuştur. Örnekleme yapıldıktan sonra yakalanan bireylere renkli halka takılarak aynı çalışma alanında doğaya geri bırakılmıştır. Renkli halka takılması, yakalanan bireyin tekrar yakalandığında aynı örnekten alınmaması için avantaj sağlamıştır. Arazi bitiminde örnekler laboratuvar ortamına getirilerek -20°C de saklanmıştır.



Şekil 2.2. Çalışma alanı olarak belirlenen Kazdağı Milli Parkı'nın konumu



Şekil 2.3. Örneklerin yakalanması ve japon ağından çıkartılması



**Şekil 2.4.** Arazi çalışmaları, örneklerin morfometrik forma yazılması, kan alımı ve yakalanan bazı küş türleri

## 2.2. Laboratuvar Çalışmaları

Laboratuvar çalışmalarının tamamı MAKÜ, Moleküler Ornitoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.5)



Şekil 2.5. MAKÜ, Moleküler Ornitoloji Laboratuvarının genel görüntüsü

### 2.2.1. DNA İzolasyonu

Kan örnekleri için Thermo GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit ile Qiagene DNA Purification kiti kullanılmıştır. Yöntemlerin protokol kullanımı aşağıda verilmiştir;

#### **Qiagene DNA Purification Kiti:**

- Kan örneği %96'lık alkol veya EDTA çözeltisi içinde olması önem arz etmeden hazırlanan 1,5 ml'lik ependorf tüpüne 100 µl aktarılır.
- 300 µl Buffer ATL ve 20 µl Proteinaz K eklenir. Vorteksleme işlemi ile örneğin parçalanması sağlanır.
- 300 µl AL tamponu eklenir ve vorteksleme işlemi yapılır.
- 300 µl ethanol (%96-100)eklenir.
- Örnek spin kolona aktarılır. 6500 g de 1 dakika santrifüj edilir. Santrifüj işleminden sonra toplama tüpü atılır ve 2 ml'lik yeni toplama tüpü yerleştirilir.
- 500 µl AW1 yıkama tamponu eklenir. 6500 g de 1 dakika santrifüj edilir ve toplama tüpü atılır. 2 ml'lik yeni toplama tüpü yerleştirilir.
- 500 µl AW2 yıkama tamponu eklenir. 8000 g de 3 dakika santrifüj edilir.
- Spin kolon yeni hazırlanan ependorf tüpüne alınır ve 70 µl AE Buffer eklenir.

- 1 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 8000 g de 1 dakika santrifüj edilir. Spin kolon atılır.
- Elde edilen DNA ependorf tüpünde kalır ve -20°C de saklanmak üzere kaldırılır.

### **Thermo, GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification**

Örnek alkol içerisinde ise;

- ✓ 1,5 ml'lik ependorf tüpüne bir miktar alkol ile birlikte aktarılır.
- ✓ Maksimum hızda santrifüj yapılır ve pipetle çekilir.
- ✓ 56 °C de 30 dakika alkol uçurulur.

Örnek EDTA çözeltisinin içerisinde ise;

- ✓ 200 µl direkt ependorf tüpüne aktarılır.
- 20 µl Proteinaz K ve 400 µl Lysis Solution eklenir.
- Homojen olana kadar vorteks yapılır.
- 56°C etüvde 1 gece bekletilir ve ara sıra vortexlenir.
- Tüpler etüvden çıkarıldıktan sonra tekrar vorteks yapılır ve üzerine 200 µl etanol (%96-100) eklenir.
- Pipetleme yapıp örnekle karıştırarak spin kolona aktarılır.
- 8000 g de 1 dakika santrifüj edilir ve toplama tüpü atılır.
- 2ml'lik toplama tüpü yerleştirilir ve 500 µl Wash Buffer I eklenir.
- 8000 g de 1 dakika santrifüj edilir ve toplama tüpü atılır.
- 2ml'lik toplama yerleştirilir ve 500 µl Wash Buffer II eklenir.
- Maksimum hızda 3 dakika santrifüj yapılır ve toplama tüpü dökülür.
- Maksimum hızda 1 dakika tekrar santrifüj işlemi yapılır.
- Steril 1,5ml'lik ependorf tüpüne kolon alınır.
- 35 µl Elution Buffer tam kolonun ortasına eklenir ve 2 dakika oda sıcaklığında bekletilir.
- 8000 g de 1 dakika santrifüj edilir.
- İkinci defa 35 µl Elution Buffer eklenir ve 2 dakika oda sıcaklığında bekletilir.
- 8000 g de 1 dakika santrifüj edilir.
- Kolon atılır ve DNA bulunan ependorf tüpü -20°C de saklanır.

### 2.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PCR işlemi parazit çalışması olduğu için mitokondrial *cyt b* gen bölgesi kullanılmıştır. Bu işlem iki aşamalı nesting PCR olarak gerçekleştirilmiştir. İlk PCR aşamasının gerçekleştirilmesi kan parazitlerinin (*Plasmodium sp.*, *Haemoproteus sp.* ve *Leucocytozoon sp.*) varlığının daha kolay belirlenmesi için hedef bölgeyi içine alan gen bölgelerinin çoğaltılması için HaemNFI-HaemNR3 primerleri kullanılmıştır. İlk aşama PCR sonrası, *Plasmodium spp.* ve *Haemoproteus spp.* türleri için HaemF ve HaemR2 primerleri ikinci aşama PCR işlemi için kullanılmıştır. *Leucocytozoon spp.* türleri için ise HaemFL ve HaemR2L ikinci aşama primerleri kullanılmıştır. Kullanılan primerler ve dizileri Tablo 2.1’de verilmiştir.

İki aşamalı PCR’den oluşan çalışma da kullanılan bu primerlerin belirli uzunlukları vardır. Bu uzunluk (bp) kullanılacak olan DNA büyüklük belirtecinin de uzunluğunu vermektedir.

**Tablo 2.1.** Çalışmada kullanılan primerler ve referansları

| Mitokondriyal Gen Bölgesi | Primer-Forward-Reverse   | Referans                |
|---------------------------|--|-------------------------|
| <i>cyt b</i>              | HaemNFI<br>5' CATATATTAAGAGAAITATGGAG 3'   | Hellgren<br>vd. (2006)  |
|                           | HaemNR3<br>5' ATAGAAAGATAAGAAATACCATTC 3'  | Bensch vd.<br>(2009)    |
|                           | HaemF<br>5' ATGGTGCTTTTCGATATATGCATG 3'<br>HaemR2<br>5' GCATTATCTGGATGTGATAATGGT 3'  | Hellgren vd.<br>(2004). |
|                           | HaemFL<br>5' ATGTGTTTTAGATACTTACATT 3'<br>HaemR2L<br>5' CATTATCTGGATGAGATAATGGIGC 3' |                         |

### Gradient PCR

Parazitler için ısı döngü, farklı cins parazitlerin gen bölgelerinin çoğaltılması için iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Öncelikle referans makaleden alınan ısı döngü gerçekleştirilmiştir ancak uygun bantlaşma görülmemiştir ve Gradient PCR uygulaması yapılmıştır. Gradient PCR için mikroskop altında kesin parazit görülen bir birey seçilerek toplam 18 numune hazırlanmış olup Tablo 2.2’de verilmiştir. Sıcaklık ve ısı döngü gradienti Tablo 2.3’de verilmiştir.



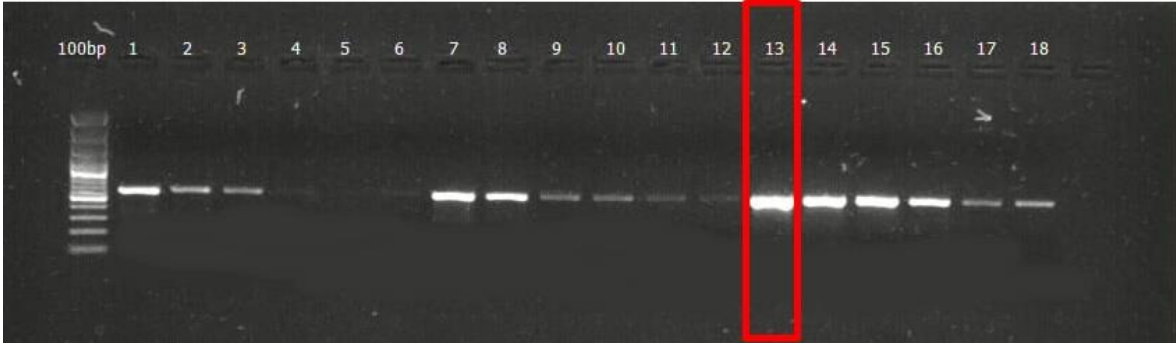
**Tablo 2.2.** Gradient PCR için hazırlanan numunelerin miktarları

|                         | 1. numune     | 2. numune    | 3. numune     |
|-------------------------|---------------|--------------|---------------|
| 10X PCR Buffer          | 2,5 µl        | 2,5 µl       | 2,5 µl        |
| dNTP mix                | 2,5 µl        | 2,5 µl       | 2,5 µl        |
| <b>MgCl<sub>2</sub></b> | <b>1,5 µl</b> | <b>2 µl</b>  | <b>2,5 µl</b> |
| 1.primer                | 0,4 µl        | 0,4 µl       | 0,4 µl        |
| 2.primer                | 0,4 µl        | 0,4 µl       | 0,4 µl        |
| Taq                     | 0,1 µl        | 0,1 µl       | 0,1 µl        |
| H <sub>2</sub> O        | 15,6 µl       | 15,1 µl      | 14,6 µl       |
| DNA                     | 2 µl          | 2 µl         | 2 µl          |
| <u>Toplam</u>           | <u>25 µl</u>  | <u>25 µl</u> | <u>25 µl</u>  |

**Tablo 2.3.** Gradient PCR için ısı döngü aralıkları

| Sıcaklık                             | Süre             | Döngü |
|--------------------------------------|------------------|-------|
| 94 °C                                | 3 dakika         | 1     |
| <b>94°C</b>                          | <b>30 saniye</b> | 35    |
| <b>45°C-47°C-49°C-50°C-51°C-52°C</b> | <b>30 saniye</b> |       |
| <b>72°C</b>                          | <b>45 saniye</b> |       |
| 72°C                                 | 10 dakika        | 1     |
| 4°C                                  | ∞                |       |

Gradient PCR sonucu %1,2'lik agaroz jelde yürütülmüştür (Şekil 2.6). Uygun bulunan ısı döngü ve tam PCR ürünü hazırlamasında kullanılan PCR mixi Tablo 2.4'de verilmiştir.



**Şekil 2.6.** PCR ürününün agaroz jelde yürütülmesi sonucu

(13 numaralı numune de kullanılan uygun sıcaklık ve uygun PCR mix, çalışma boyunca kabul edilmiştir).

**Tablo 2.4.** Kullanılan PCR mix.'in Hazırlanışı

| Uygun PCR mix  |               | 1. Aşama PCR             |             |              | 2. Aşama PCR                             |             |              |
|----------------|---------------|--------------------------|-------------|--------------|--|-------------|--------------|
| 10X PCR Buffer | 2,5 µl        | <b>HaemNFI-HaemNR3</b>   |             |              | <b>HaemF2-HaemR2,<br/>HaemFL-HaemR2L</b> |             |              |
| dNTP mix       | 2,5 µl        | <b>Uygun Isı Döngüsü</b> |             |              | <b>Uygun Isı Döngüsü</b>                 |             |              |
| <b>MgCl2</b>   | <b>2,5 µl</b> | <b>Sıcaklık</b>          | <b>Süre</b> | <b>Döngü</b> | <b>Sıcaklık</b>                          | <b>Süre</b> | <b>Döngü</b> |
| 1.primer       | 0,4 µl        | 94 °C                    | 3 dakika    | 1            | 94 °C                                    | 3 dakika    | 1            |
| 2.primer       | 0,4 µl        | 94°C                     | 30 saniye   |              | 94°C                                     | 30 saniye   |              |
| Taq            | 0,1 µl        | 45°C                     | 30 saniye   | 20           | 45°C                                     | 30 saniye   | 35           |
| H2O            | 14,6 µl       | 72°C                     | 45 saniye   |              | 72°C                                     | 45 saniye   |              |
| DNA            | 2 µl          | 72°C                     | 10 dakika   | 1            | 72°C                                     | 10 dakika   | 1            |
| <b>Toplam</b>  | <b>25 µl</b>  | 4°C                      | ∞           |              | 4°C                                      | ∞           |              |

### 2.2.3. Örnekler İçin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR işlemi iki aşamalı gerçekleşmiştir. Birinci aşama için hazırlanan PCR mix Çizelge’de verilmiştir. İlk aşama için HaemNFI-HaemNR3 (*Haemoproteus sp.*, *Plasmodium sp.*, *Leucocytozoon sp.*) primer çifti kullanılmıştır (Tablo 2.5).

**Tablo 2.5.** Birinci PCR aşaması

| 1. PCR Aşaması (HaemNFI-HaemNR3) |               |                   |                  |              |
|----------------------------------|---------------|-------------------|------------------|--------------|
| 10X PCR Buffer                   | 2,5 µl        | Uygun Isı Döngüsü |                  |              |
| dNTP mix                         | 2,5 µl        |                   |                  |              |
| <b>MgCl<sub>2</sub></b>          | <b>2,5 µl</b> | <b>Sıcaklık</b>   | <b>Süre</b>      | <b>Döngü</b> |
| 1.primier                        | 0,4 µl        | 94 °C             | 3 dakika         | 1            |
| 2.primier                        | 0,4 µl        | <b>94°C</b>       | <b>30 saniye</b> | <b>20</b>    |
| Taq                              | 0,1 µl        | <b>45°C</b>       | <b>30 saniye</b> |              |
| H <sub>2</sub> O                 | 14,6 µl       | <b>72°C</b>       | <b>45 saniye</b> |              |
| DNA                              | 2 µl          | 72°C              | 10 dakika        | 1            |
| <b>Toplam</b>                    | <b>25 µl</b>  | 4°C               | ∞                |              |

İlk aşama PCR işlemi için mix 25 µl hazırlanmıştır. PCR işlemi gerçekleştikten sonra Agaroz jel elektroforezinde görüntülenme yapılmayacağı için ikinci aşama PCR işlemine geçilmiştir. İkinci aşama PCR işlemi için mix 50 µl hazırlanmıştır. İkinci aşama aynı döngü olacak şekilde farklı primerler kullanıldığı için iki ayrı şekilde gerçekleştirilmiştir. *Plasmodium* ve *Haemoproteus* cinsleri için HaemF ve HaemR2 primerleri, *Leucocytozoon* cinsi için ise HaemFL ve HaemR2L ikinci aşama primerleri kullanılmıştır. Her iki çift primer kullanılan mix için DNA 1. PCR işlemi sonucunda oluşan PCR ürünü içeren tüplerden alınmıştır (Tablo 2.6).

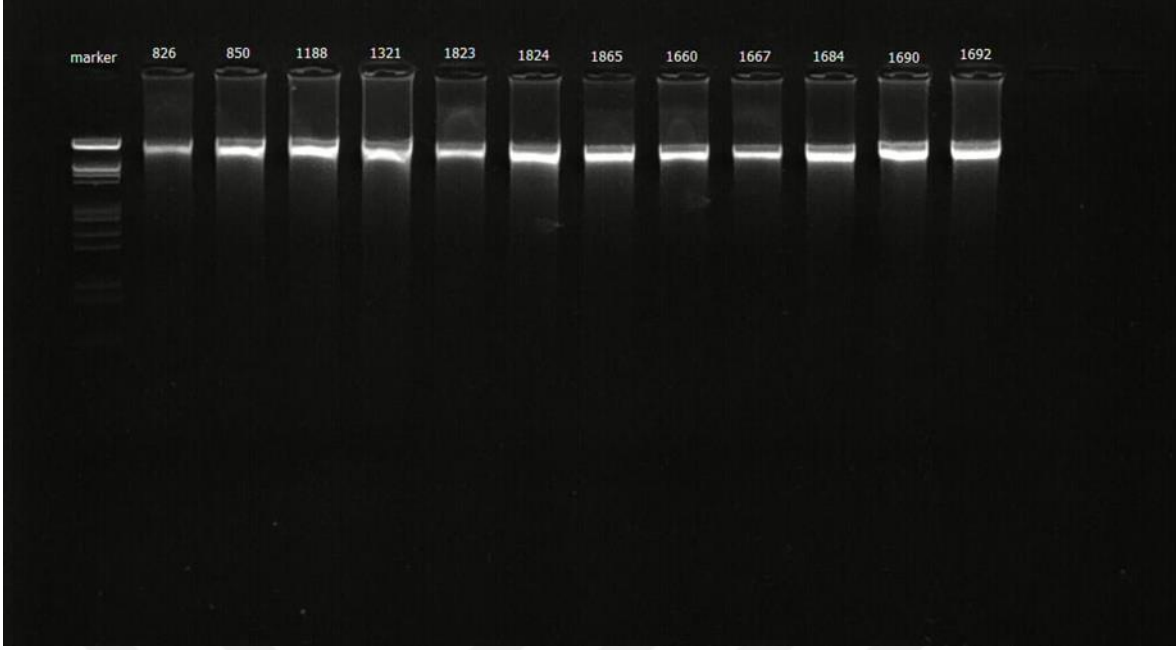
**Tablo 2.6.** İkinci PCR Aşaması

| <b>2. PCR Aşaması (HaemF-HaemR<sub>3</sub>, HaemFL-HaemR<sub>2</sub>L)</b> |              |                          |                  |           |
|--|--------------|--------------------------|------------------|-----------|
| 10X PCR Buffer   | 5 µl         | <b>Uygun Isı Döngüsü</b> |                  |           |
| dNTP mix   | 5 µl         |                          |                  |           |
| MgCl <sub>2</sub>  | 5 µl         | Sıcaklık                 | Süre             | Döngü     |
| 1.primere  | 0,8 µl       | 94 °C                    | 3 dakika         | 1         |
| 2.primere  | 0,8 µl       | <b>94°C</b>              | <b>30 saniye</b> | <b>35</b> |
| Taq  | 0,2 µl       | <b>45°C</b>              | <b>30 saniye</b> |           |
| H <sub>2</sub> O   | 29,2 µl      | <b>72°C</b>              | <b>45 saniye</b> |           |
| DNA  | 4 µl         | 72°C                     | 10 dakika        | 1         |
| <b>Toplam</b>  | <b>50 µl</b> | 4°C                      | ∞                |           |

#### **2.2.4. Agaroz Jel Hazırlama ve Görüntüleme**

##### **DNA İzolasyonu Sonuçlarının Jelde Görüntülenmesi**

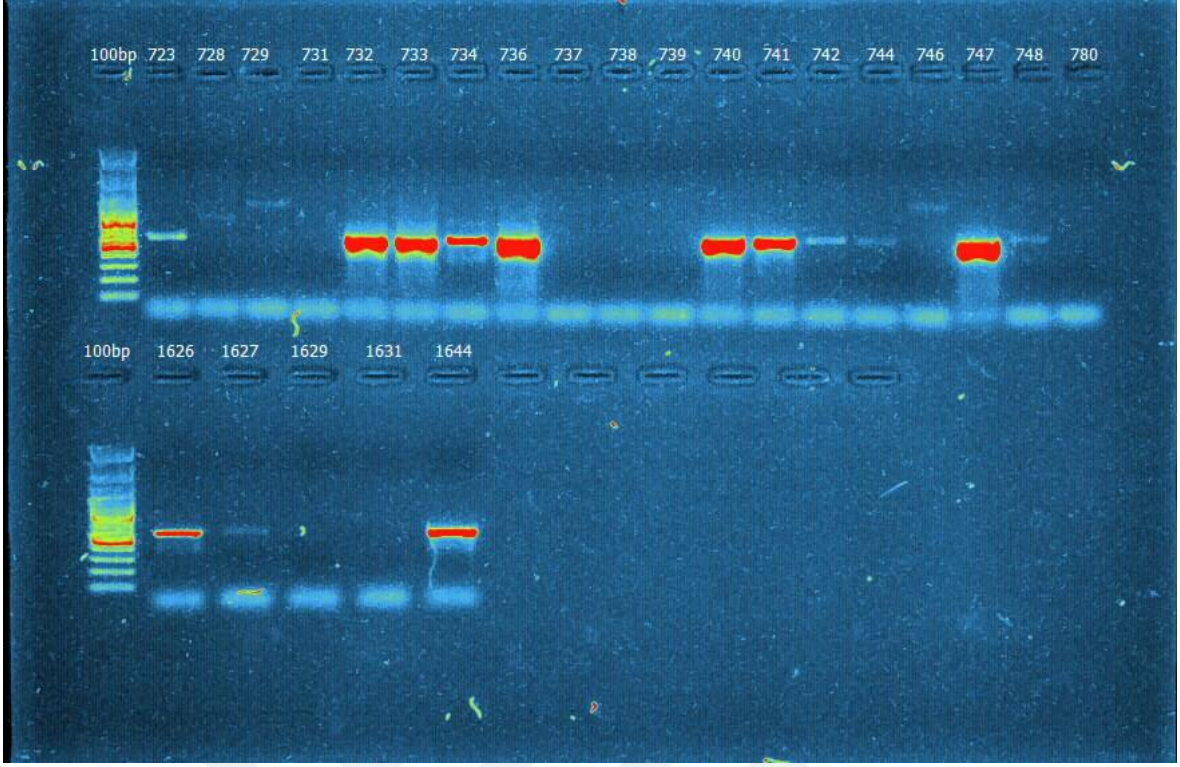
DNA izolasyonu örnekleri için hazırlanan jele 0,96 g agaroz hassas terazide tartılıp 120 ml TAE eklenmiştir. Hazırlanan bu karışım mikrodalga fırında çözünüp homojen karışım olana kadar kaynatılmıştır. Kaynadıktan sonra fırından alınıp 1-2 dakika bekletildikten sonra 16 µl GelRed eklenmiştir. Jel kasetine taraklar konularak üzerine dökülmüştür ve oda sıcaklığında soğumaya alınmıştır. Donduktan sonra üzerindeki taraklar jele zarar vermeyecek şekilde çıkartılmıştır. Jel kasetle birlikte 1XTAE Elektroforez/Jel Tampon çözeltisi ile dolu olan elektroforez tankına kuyucuklar negatif (-) yüklü katod yönüne gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Kuyucuğa 100-10000 bp uzunluğunda DNA büyüklük belirteci yüklenmiştir. Steril saat camı veya parafilm kağıdı üzerinde ependorf tüplerinde bulunan DNA'dan 5 µl ve 1 µl loading dye boyası alınarak pipetleme gerçekleştirilmiştir. Diğer kuyucuklara DNA'lar yüklenmiştir. Yüklenen örnekler 110 voltta 40 dk yürütülmüştür. Elektroforez sonucu DNA'lar UV Görüntüleme cihazı ile görüntülenmiş ve fotoğraflar kaydedilmiştir (Şekil 2.7)



**Şekil 2.7.** DNA'ların elektroforez sonrası fotoğrafı

### **PCR İşlemi Sonuçlarının Jelde Görüntülenmesi**

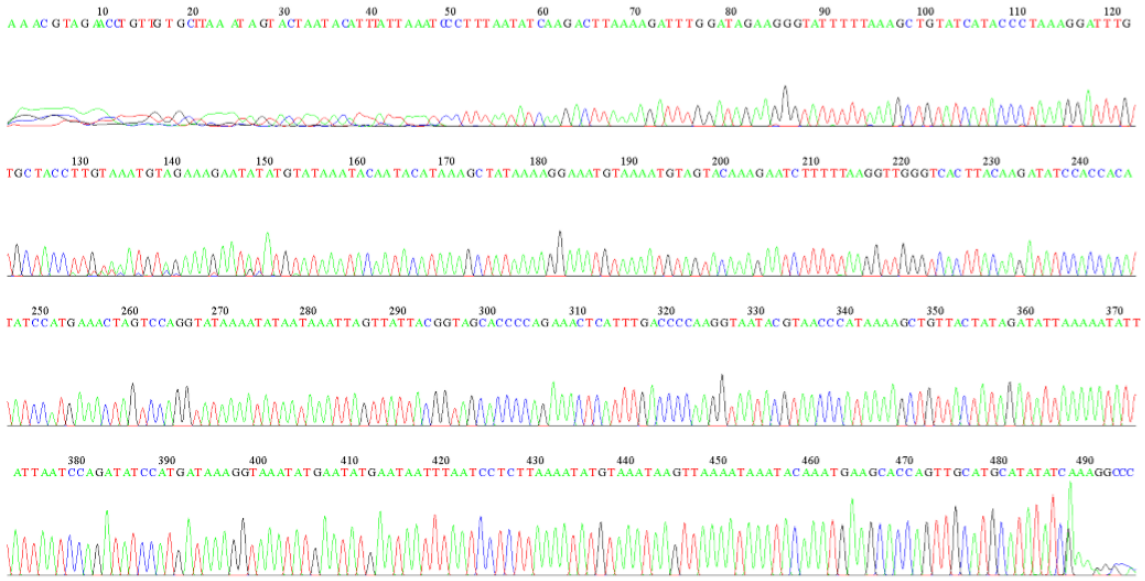
Agaroz jel %1.2'lik olacak şekilde hazırlanmıştır. 1,44 g agaroz ve 120 ml 1XTAE tampon çözeltisi karıştırılıp mikrodalga fırında kaynatılmıştır. Kaynama işlemi bittikten sonra 16 µl GelRed eklenmiştir. Jel kasetine taraklar konularak üzerine dökülmüştür ve oda sıcaklığında soğumaya alınmıştır. Donduktan sonra üzerindeki taraklar jele zarar vermeyecek şekilde çıkartılmıştır. Jel kasetle birlikte 1XTAE Elektroforez/Jel Tampon çözeltisi ile dolu olan elektroforez tankına kuyucuklar negatif (-) yüklü katod yönüne gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Kuyucuğa 100-1000 bp uzunluğunda DNA büyüklük belirteci (Marker) yüklenmiştir. Steril saat camı veya parafilm kağıdı üzerinde PCR tüplerinde bulunan DNA'dan 5 µl ve 1 µl loading dye boyası alınarak pipetleme gerçekleştirilmiştir. Diğer kuyucuklara PCR örnekleri yüklenmiştir. Yüklenen örnekler 80 voltta 40 dk yürütülmüştür. Elektroforez sonucu DNA'lar UV Görüntüleme cihazı ile görüntülenmiş ve fotoğraflar kaydedilmiştir (Şekil 2.8).



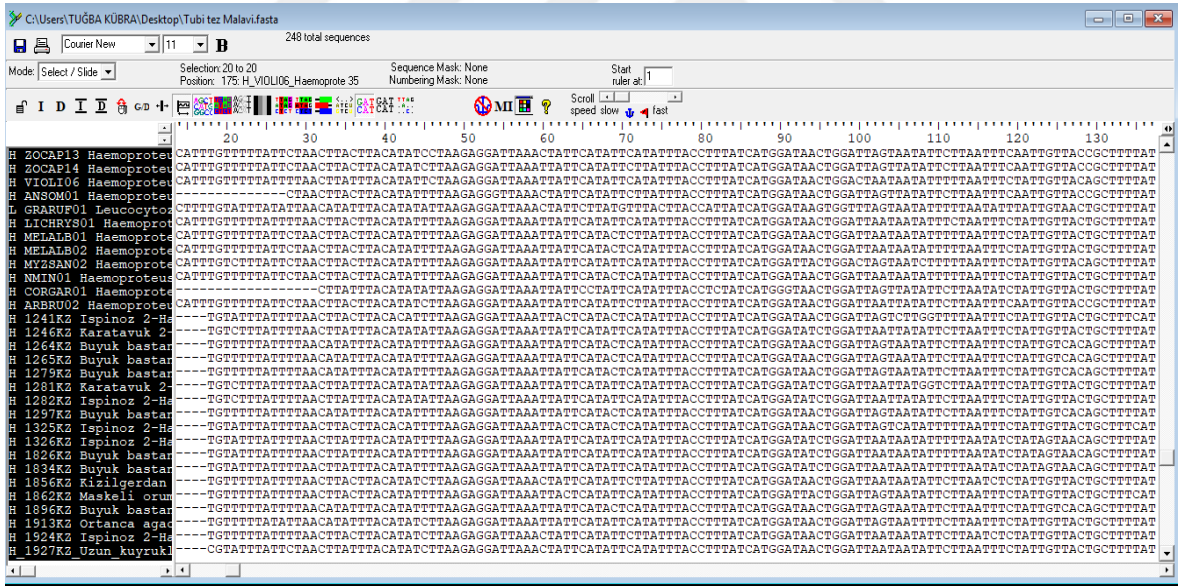
**Şekil 2.8.** İkinci PCR işlemi sonucu Jel Elektroforez Görüntüsü  
(Bant olanlar parazit varlığını göstermektedir)

### 2.3. Verilerin Değerlendirilmesi

PCR aşamasından sonra sekans dizi analizi için band olan PCR ürünleri, yurtdışında faaliyette olan MACROGEN firmasına gönderilmiştir. Sekans diziliminde hataların ve yanlış okumaların önüne geçilmesi için çift taraflı okuma gerçekleştirilmiştir. BioEdit 7.0.5.3. programı kullanılarak forward ve reverse sekans dizileri birlikte bakılıp, piklere göre düzeltmeleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.9) Daha sonra tüm bireylerin sekans dizileri hizalanarak alignmant yapılmıştır. Dizilerde delesyon olup olmadığı kontrol edildikten sonra Fasta formatında kaydedilmiştir.(Şekil 2.10). Alingment yapılan tüm örneklerin MEGA X programında Neighbor joining metodu kullanılarak filogenetik ağaçları elde edilmiştir. Elektroforez sonucunda elde edilen bantlaşmalardan *Parahaemoproteus* ve *Leucocytozoon* parazitlerin yüzdeleri bulunmuştur. Yükseklikle parazit arasındaki ilişki ve parazitlerin birbirleri arasındaki ilişkinin ortaya çıkarılması için SPPS programı kullanılmıştır.



Şekil 2.9. Elde edilen sekans sonuçlarına ait pikler



Şekil 2.10. BioEdit Sequence Alignment Editor programında dizilerin alt alta yapılan alignmentleri

NCBI GenBank uluslararası kabul edilen ve araştırmacıların tüm genleri ortak alanda topladıkları veri tabanı ağıdır. MalAvi veri tabanı kuşlarda kan paraziti çalışmalarını gerçekleştiren bilim insanlarının genleri ortak alanda topladıkları veri tabanı ağıdır. NCBI veri tabanı MalAvi veri tabanına göre daha kapsamlı bir ağ yapısına sahiptir. Elde edilen

sekans sonuçlarının benzerlik oranlarının belirlenmesi için NCBI GenBank veri tabanı ve MalAvi veri tabanı kullanılmıştır Yeni haplotip örnekleri bu karşılaştırma sonucu bulunmuştur. Cins bazında olan sekans sonuçları çalışılmış örnekler ile birlikte MEGA X programında filogenetik ağaçları çizilmiştir.





### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 3.1. Arazi Çalışmalarında Elde Edilen Bulgular

Balıkesir Kazdağı Milli Park'ında gerçekleşen arazi çalışmasında üç ayrı yükseklik alanı kullanılarak (0-400, 500-800, 1200-1700) toplam 92 ötücü kuş yakalanmıştır (Tablo 3.1).

**Tablo 3.1.** Arazi çalışmasında yakalanan kuş türleri ve yüksekliğe bağlı dağılımı

| Latince                       | Türkçe                   | Birey sayısı (n) |           |           |            |
|-------------------------------|--------------------------|------------------|-----------|-----------|------------|
|                               |                          | Toplam           | 0-400m    | 500-800m  | 1200-1700m |
| <i>Sitta krueperi</i>         | Anadolu sıvacısı         | 8                | 3         | 1         | 4          |
| <i>Parus major</i>            | Büyük baştankara         | 18               | 6         | 11        | 1          |
| <i>Lanius nubicus</i>         | Maskeli örümcekkuşu      | 3                | 3         | 0         | 0          |
| <i>Cyanistes caeruleus</i>    | Mavi baştankara          | 5                | 3         | 2         | 0          |
| <i>Turdus merula</i>          | Karatavuk                | 7                | 1         | 6         | 0          |
| <i>Erithacus rubecula</i>     | Kızılgerdan              | 6                | 3         | 1         | 2          |
| <i>Sitta europaea</i>         | Sıvacı                   | 1                | 1         | 0         | 0          |
| <i>Phylloscopus bonelli</i>   | Boz söğütbülbülü         | 2                | 2         | 0         | 0          |
| <i>Aegithalos caudatus</i>    | Uzunkuyruklu baştankara  | 1                | 1         | 0         | 0          |
| <i>Dendrocopos syriacus</i>   | Alaca ağaçkakan          | 1                | 1         | 0         | 0          |
| <i>Dendrocopos medius</i>     | Ortanca ağaçkakan        | 2                | 1         | 1         | 0          |
| <i>Dendrocopos major</i>      | Orman alaca ağaçkakan    | 1                | 1         | 0         | 0          |
| <i>Phylloscopus collybita</i> | Cıvgın                   | 3                | 0         | 0         | 3          |
| <i>Fringilla coelebs</i>      | İspinoz                  | 12               | 2         | 6         | 4          |
| <i>Carduelis chloris</i>      | Florya                   | 1                | 1         | 0         | 0          |
| <i>Parus ater</i>             | Çam baştankarası         | 14               | 0         | 1         | 13         |
| <i>Sylvia cantillans</i>      | Bıyıklı ötleğen          | 1                | 0         | 1         | 0          |
| <i>Sylvia curruca</i>         | Küçük akgerdanlı ötleğen | 1                | 0         | 1         | 0          |
| <i>Certhia brachydactyla</i>  | Bahçe tırmaşıkkuşu       | 1                | 0         | 0         | 1          |
| <i>Emberiza cirrus</i>        | Bahçe kirazkuşu          | 1                | 1         | 0         | 0          |
| <i>Regulus regulus</i>        | Çalikuşu                 | 3                | 0         | 0         | 3          |
|                               | <b>Genel Toplam</b>      | <b>92</b>        | <b>30</b> | <b>31</b> | <b>31</b>  |

Yükseklik ve kan parazitlerinin görülme verilmiştir. Sonuçlara göre örneklerin %77'sinde Parahaemoproteus cinsine ait türler bulunurken (Tablo 3.2) %59 Leucocytozoon cinsine ait türler tespit edilmiştir (Tablo 3.3).

**Tablo 3.2.** Elektroforez sonucuna göre Parahaemoproteus cinsinin yüzdelik prevalansı

| Haemosporidian                |                          | Birey sayısı (n) | 0-400        |              | 500-800      |              | 1200-1700    |              | Var Toplamı | % Var        |
|-------------------------------|--------------------------|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|
| Latince                       | Türkçe                   |                  | % Prevalansı | Var (n)      | % Prevalansı | Var (n)      | % Prevalansı | Var (n)      |             |              |
| <i>Sitta krueperi</i>         | Anadolu sıvacısı         | 8                | 100          | 3            |              | 1            |              | 4            | 8           | 100          |
| <i>Parus major</i>            | Büyük baştankara         | 18               | 66,7         | 4            |              | 8            |              | 1            | 13          | 72,22        |
| <i>Lanius nubicus</i>         | Maskeli örümcekuşu       | 3                | 33,3         | 1            |              |              |              |              | 1           | 33,33        |
| <i>Cyanistes caeruleus</i>    | Mavi baştankara          | 5                | 100          | 3            | 50           | 1            |              |              | 4           | 80           |
| <i>Turdus merula</i>          | Karatavuk                | 7                | 0            | 0            | 83,3         | 5            |              |              | 5           | 71,43        |
| <i>Erithacus rubecula</i>     | Kızılgerdan              | 6                | 33,3         | 1            | 0            | 0            | 100          | 2            | 3           | 50           |
| <i>Sitta europaea</i>         | Sıvacı                   | 1                | 100          | 1            |              |              |              |              | 1           | 100          |
| <i>Phylloscopus bonelli</i>   | Boz söğütbülbülü         | 2                | 50           | 1            |              |              |              |              | 1           | 50           |
| <i>Aegithalos caudatus</i>    | Uzunkuyruklu baştankara  | 1                | 100          | 1            |              |              |              |              | 1           | 100          |
| <i>Dendrocopos syriacus</i>   | Alaca ağaçkakan          | 1                | 0            | 0            |              |              |              |              | 0           | 0            |
| <i>Dendrocopos medius</i>     | Ortanca ağaçkakan        | 2                | 0            | 0            | 100          | 1            |              |              | 1           | 50           |
| <i>Dendrocopos major</i>      | Orman alaca ağaçkakan    | 1                | 100          | 1            |              |              |              |              | 1           | 100          |
| <i>Phylloscopus collybita</i> | Cıvgın                   | 3                |              |              |              |              | 100          | 3            | 3           | 100          |
| <i>Fringilla coelebs</i>      | İspinoz                  | 12               | 100          | 2            | 83,3         | 5            | 100          | 4            | 11          | 91,67        |
| <i>Carduelis chloris</i>      | Florya                   | 1                | 100          | 1            |              |              |              |              | 1           | 100          |
| <i>Parus ater</i>             | Çam baştankarası         | 14               |              |              | 100          | 1            | 92,3         | 12           | 13          | 92,86        |
| <i>Sylvia cantillans</i>      | Bıyıklı ötleğen          | 1                |              |              | 0            | 0            |              |              | 0           | 0            |
| <i>Sylvia curruca</i>         | Küçük akgerdanlı ötleğen | 1                |              |              | 0            | 0            |              |              | 0           | 0            |
| <i>Certhia brachydactyla</i>  | Bahçe tırnaşıkkuşu       | 1                |              |              |              |              | 100          | 1            | 1           | 100          |
| <i>Emberiza cirrus</i>        | Bahçe kirazkuşu          | 1                | 0            | 0            |              |              |              |              | 0           | 0            |
| <i>Regulus regulus</i>        | Çalığı                   | 3                |              |              |              |              | 100          | 3            | 3           | 100          |
|                               | <b>Genel Toplam</b>      | <b>92</b>        |              | <b>19</b>    |              | <b>22</b>    |              | <b>30</b>    | <b>71</b>   | <b>77,17</b> |
|                               | <b>Genel Yüzde</b>       |                  |              | <b>63,33</b> |              | <b>70,97</b> |              | <b>96,77</b> |             |              |

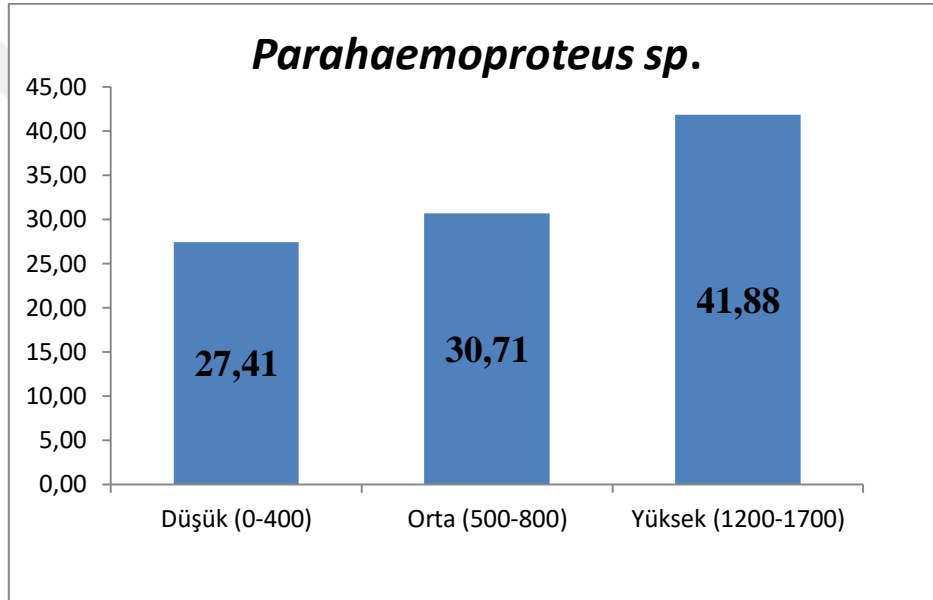
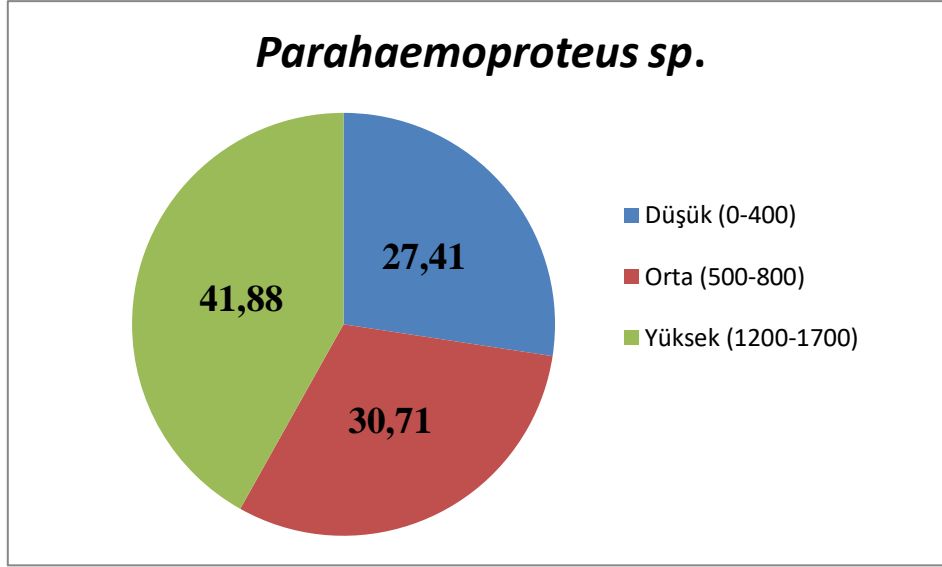
**Tablo 3.3.** Elektroferez sonucuna göre Leucocytozoon cinsinin yüzdelik prevalansı

| Leucocytozoon                 |                          | 0-400           |                   | 500-800        |                   | 1200-1700      |                   |                |             |              |
|-------------------------------|--------------------------|-----------------|-------------------|----------------|-------------------|----------------|-------------------|----------------|-------------|--------------|
| Tür (Latince)                 | Tür (Türkçe)             | Birey sayısı(n) | Var (%) Prevalans | Var Sayısı (n) | Var (%) Prevalans | Var Sayısı (n) | Var (%) Prevalans | Var Sayısı (n) | Var Toplamı | % Var        |
| <i>Sitta krueperi</i>         | Anadolu sıvacısı         | 8               | 50                | 1              | 0                 | 0              | 33,33             | 1              | 2           | 25           |
| <i>Parus major</i>            | Büyük baştankara         | 18              | 100               | 6              | 81,81             | 9              | 100               | 1              | 16          | 88,89        |
| <i>Lanius nubicus</i>         | Maskeli örümcekkuşu      | 3               | 33,33             | 1              |                   |                |                   |                | 1           | 33,33        |
| <i>Cyanistes caeruleus</i>    | Mavi baştankara          | 5               | 66,66             | 2              | 50                | 1              |                   |                | 3           | 60           |
| <i>Turdus merula</i>          | Karatavuk                | 7               | 100               | 1              | 83,33             | 5              |                   |                | 5           | 71,43        |
| <i>Erithacus rubecula</i>     | Kızılgerdan              | 6               | 33,33             | 1              | 0                 | 0              | 0                 | 0              | 1           | 16,67        |
| <i>Sitta europaea</i>         | Sıvacı                   | 1               | 0                 | 0              |                   |                |                   |                | 0           | 0            |
| <i>Phylloscopus bonelli</i>   | Boz söğütbülbülü         | 2               | 50                | 1              |                   |                |                   |                | 1           | 50           |
| <i>Aegithalos caudatus</i>    | Uzunkuyruklu baştankara  | 1               | 100               | 1              |                   |                |                   |                | 1           | 100          |
| <i>Dendrocopos syriacus</i>   | Alaca ağaçkakan          | 1               | 100               | 1              |                   |                |                   |                | 1           | 100          |
| <i>Dendrocopos medius</i>     | Ortanca ağaçkakan        | 2               | 100               | 1              | 100               | 1              |                   |                | 2           | 100          |
| <i>Dendrocopos major</i>      | Orman alaca ağaçkakan    | 1               | 0                 | 0              |                   |                |                   |                | 0           | 0            |
| <i>Phylloscopus collybita</i> | Cıvgın                   | 3               |                   |                |                   |                | 33,33             | 1              | 1           | 33,33        |
| <i>Fringilla coelebs</i>      | İspinoz                  | 12              | 100               | 2              | 33,33             | 2              | 75                | 3              | 6           | 50           |
| <i>Carduelis chloris</i>      | Florya                   | 1               | 100               | 1              |                   |                |                   |                | 1           | 100          |
| <i>Parus ater</i>             | Çam baştankarası         | 14              |                   |                | 100               | 1              | 92,31             | 12             | 13          | 92,86        |
| <i>Sylvia cantillans</i>      | Bıyıklı ötleğen          | 1               |                   |                | 0                 | 0              |                   |                | 0           | 0            |
| <i>Sylvia curruca</i>         | Küçük akgerdanlı ötleğen | 1               |                   |                | 0                 | 0              |                   |                | 0           | 0            |
| <i>Certhia brachydactyla</i>  | Bahçe tırmaşıkkuşu       | 1               |                   |                |                   |                | 100               | 1              | 1           | 100          |
| <i>Emberiza cirrus</i>        | Bahçe kirazkuşu          | 1               | 0                 | 0              |                   |                |                   |                | 0           | 0            |
| <i>Regulus regulus</i>        | Çalikuşu                 | 3               |                   |                |                   |                | 0                 | 0              | 0           | 0            |
|                               | <b>Genel Toplam</b>      | <b>92</b>       |                   | <b>19</b>      |                   | <b>19</b>      |                   | <b>19</b>      | <b>55</b>   | <b>59,78</b> |
|                               | <b>Genel Yüzde</b>       |                 |                   | <b>63,33</b>   |                   | <b>61,29</b>   |                   | <b>61,29</b>   |             |              |

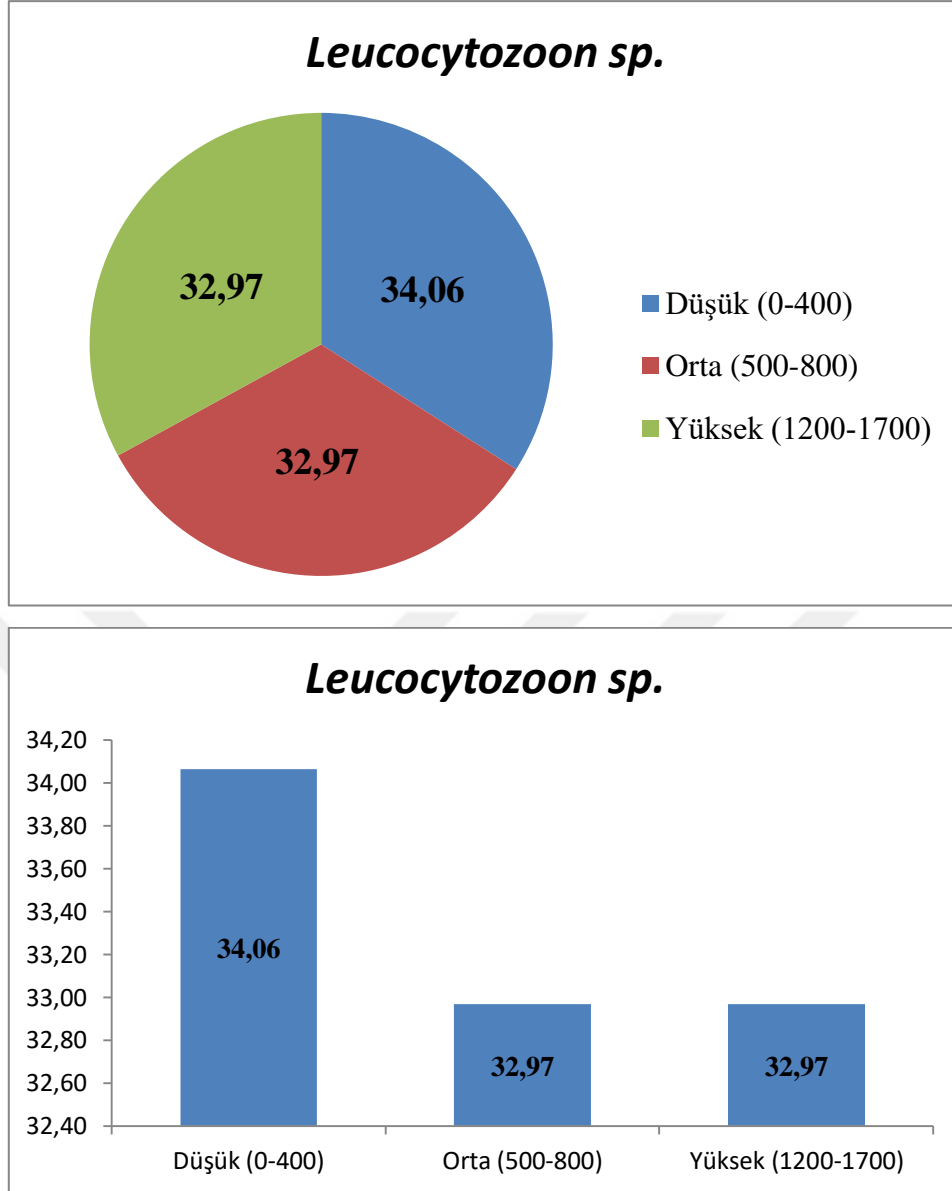
**Tablo 3.4.** Elektroforez sonucuna göre yüksekliğe bağlı parazitlerin yüzdeler ve prevalansı

| Yükseklik (m)      | <i>Parahaemoproteus</i> |    | <i>Lecocytozoon</i> |    | Birey Sayısı(n) |
|--------------------|-------------------------|----|---------------------|----|-----------------|
|                    | %                       | n  | %                   | n  |                 |
| Düşük (0-400)      | 63,33                   | 19 | 63,33               | 19 | 30              |
| Orta (500-800)     | 70,97                   | 22 | 61,29               | 19 | 31              |
| Yüksek (1200-1700) | 96,77                   | 30 | 61,29               | 19 | 31              |
| <b>Ortalama(%)</b> | <b>77,02</b>            |    | <b>61,97</b>        |    |                 |

Yüksekliklerin genel ortalama yüzdelerine bakıldığında %77,02 oranında *Haemoproteus* ve *Plasmodium* cinslerini içeren *Parahaemoproteus*'a ait parazit yüzdeleri bulunurken; *Leucocytozoon* cinsine ait parazitlerin ortalama değeri ise %61,97 olarak bulunmuştur (Tablo 3.4). *Parahaemoproteus* cinsine ait bulunma yüzdeleri grafik de gösterilmiştir (Şekil 3.1).



**Şekil 3.1.** *Parahaemoproteus Haemoproteus sp.* ve *Plasmodium sp.*) cinslerinin yükseklik prevelansları



**Şekil 3.2.** Leucocytozoon cinslerinin yükseklik prevelansları

Parahaemoproteus cinsleri yükseklik ile ilgili pozitif korelasyon göstermektedir ( $p < 0.05$ ,  $r = 0,398$ ). Leucocytozoon cinsine ait bulunma yüzdeleri grafik de gösterilmiştir (Şekil 3.2). Leucocytozoon sp. cinsleri ise negatif korelasyon göstermektedir ve yüksekliğe bağlı ilişkisi bulunmamaktadır ( $p > 0,05$  ve  $r = -0,073$ ).

En az iki yükseklik alanında görülen türler sıralanmıştır. Parahaemoproteus ve Leucocytozoon cinslerinin görülme yüzdeleri verilmiştir (Tablo 3.5). SPSS istatistik programında analiz edilmiştir.

Parahaemoproteus cinsleri türler arasında yapılan ANOVA testinde fark bulunamamıştır ve anlamlı değildir. Ancak Leucocytozoon cinsleri için türler arasında fark bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Tablo 3.6).

**Tablo 3.5.** En az iki yükseklik alanında olacak şekilde seçilen türlerin yüzdelik değerleri

| Türler            | N  | Parahaemoproteus % | Leucocytozoon % |
|-------------------|----|--------------------|-----------------|
| Anadolu sivacisi  | 3  | 100                | 19,33           |
| Büyük baştankara  | 3  | 79,33              | 93,67           |
| Mavi baştankara   | 2  | 75                 | 58              |
| Karatavuk         | 2  | 41,5               | 91,5            |
| Kızılgerdan       | 3  | 44,33              | 11              |
| Ortanca ağaçkakan | 2  | 50                 | 100             |
| İspinoz           | 3  | 94,33              | 69,33           |
| Çam baştankarası  | 2  | 96                 | 96              |
| Total             | 20 | <b>73,95</b>       | <b>63,55</b>    |

**Tablo 3.6.** Leucocytozoon cinslerinin birbirleri arasındaki etkileşimi

| Türler            | Anadolu sivacısı | Büyük baştankara | Mavi baştankara | Karatavuk | Kızılgerdan | Ortanca ağaçkakan | İspinoz |
|-------------------|------------------|------------------|-----------------|-----------|-------------|-------------------|---------|
| Anadolu sivacısı  |                  |                  |                 |           |             |                   |         |
| Büyük baştankara  | 0                |                  |                 |           |             |                   |         |
| Mavi baştankara   | n.s              | n.s              |                 |           |             |                   |         |
| Karatavuk         | 0,001            | n.s              | n.s             |           |             |                   |         |
| Kızılgerdan       | n.s              | 0                | 0,017           | 0         |             |                   |         |
| Ortanca ağaçkakan | 0                | n.s              | 0,043           | n.s       | 0           |                   |         |
| İspinoz           | 0,006            | n.s              | n.s             | n.s       | 0,002       | n.s               |         |
| Çam baştankarası  | 0,001            | n.s              | n.s             | n.s       | 0           | n.s               | n.s     |

(n.s: fark yoktur)

Parahaemoproteus cinsinin yükseklikler arasındaki farkına bakıldığında fark vardır ve anlamlıdır ( $p<0.05$ ) Ancak Leucocytozoon cinsinin yükseklikler arası farkına bakıldığında fark yoktur ( $p>0.05$ ) (Tablo 3.7).

**Tablo 3.7.** Cinslerin yükseklikler arasındaki farkı

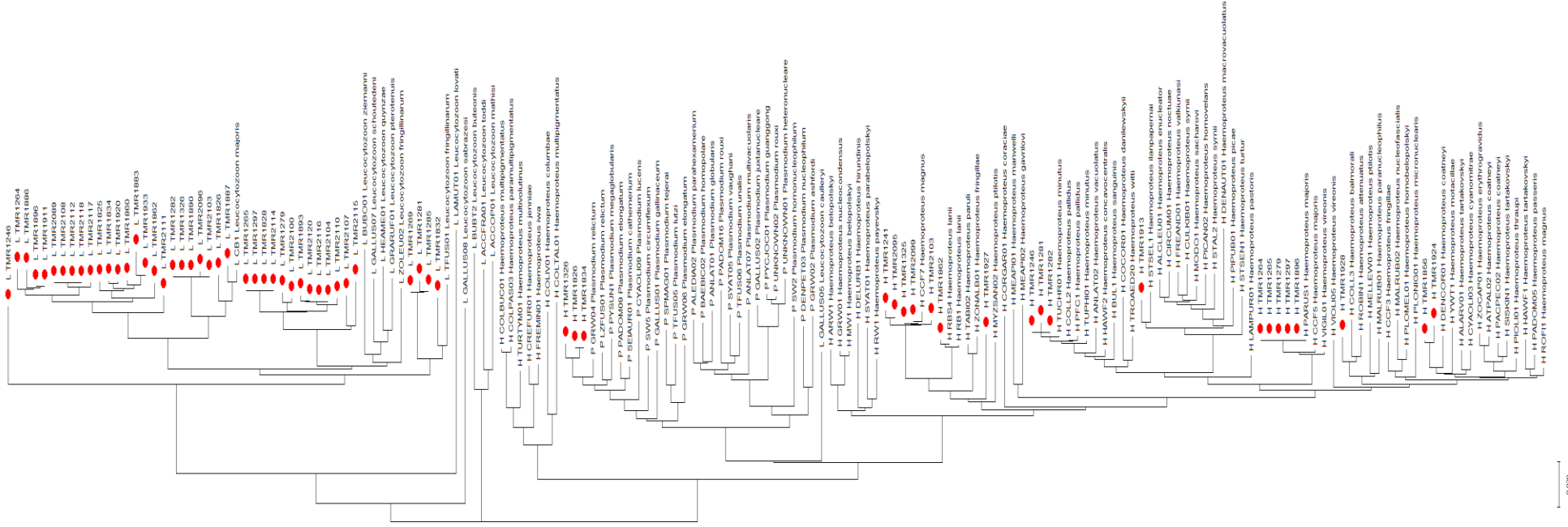
|                  | Yükseklik |      |       |         |          |          |
|------------------|-----------|------|-------|---------|----------|----------|
|                  | %         |      |       |         |          |          |
| Cinsler          | 400       | 800  | 1600  | 400-800 | 400-1600 | 800-1600 |
| Parahaemoproteus | 58,8      | 58,8 | 99    | n.s     | 0.023    | 0.035    |
| Leucocytozoon    | 61        | 44,7 | 53,12 | n.s     | n.s      | n.s      |

### 3.2. Filogenetik Ağaçların Karşılaştırılması ve Analizi

Kazdağı Milli Parkı'nda üç farklı yükseklikte (0-400, 500-800, 1200-1700) yakalanan bireylerin kan parazitlerinin filogenetik ağaçlarının çizilmesi gerçekleştirilmiştir. Parahaemoproteus ve Leucocytozoon cinsleri için farklı primer çiftleri kullanılmıştır. Bu primerlerin uzunluğu Parahaemoproteus ve Leucocytozoon cinsleri için farklılık göstermektedir. *Haemoproteus*, *Plasmodium* ve *Leucocytozoon* cinsleri için Neighbor-Joining methodu kullanılarak filogenetik ağaçlar çizilmiştir (Şekil 3.3). MalAvi ve NCBI Gen Bankasından alınan örneklerle karşılaştırması yapılmıştır.

Parahaemoproteus cinsine ait sekans sonuçları MalAvi veritabanındaki veriler ile karşılaştırılmıştır ve filogenetik ağaçları çizilmiştir. (Şekil 3.4). Leucocytozoon cinsine ait sekans sonuçları da MalAvi veritabanından alınan örneklerle karşılaştırması yapılarak filogenetik ağaçları çizilmiştir (Şekil 3.5). Tez çalışmasına ait olan **HTMR1326**, **HTMR1826** ve **HTMR1834**; MalAvi veri tabanından alınan *Plasmodium relictum* türüne ait haplotip ile yakın dallanma gösterdiği görülmektedir. **HTMR1241**, **HTMR2095**, **HTMR1325**, **HTMR2099** ve **HTMR2103** örneklerinin ise *Haemoproteus magnus* türüne ait haplotip ile yakın dallanma gösterdiği görülmektedir. **HTMR1862** numaralı örneğin *Haemoproteus lanii* türüne ait haplotip ile aynı dallanmada olduğu görülmektedir. **HTMR1264**, **HTMR1265**, **HTMR1279**, **HTMR1297** ve **HTMR1896** örneklerin ise *Haemoproteus majoris*' e ait haplotip ile aynı dal üzerinde bulunduğu görülmektedir.

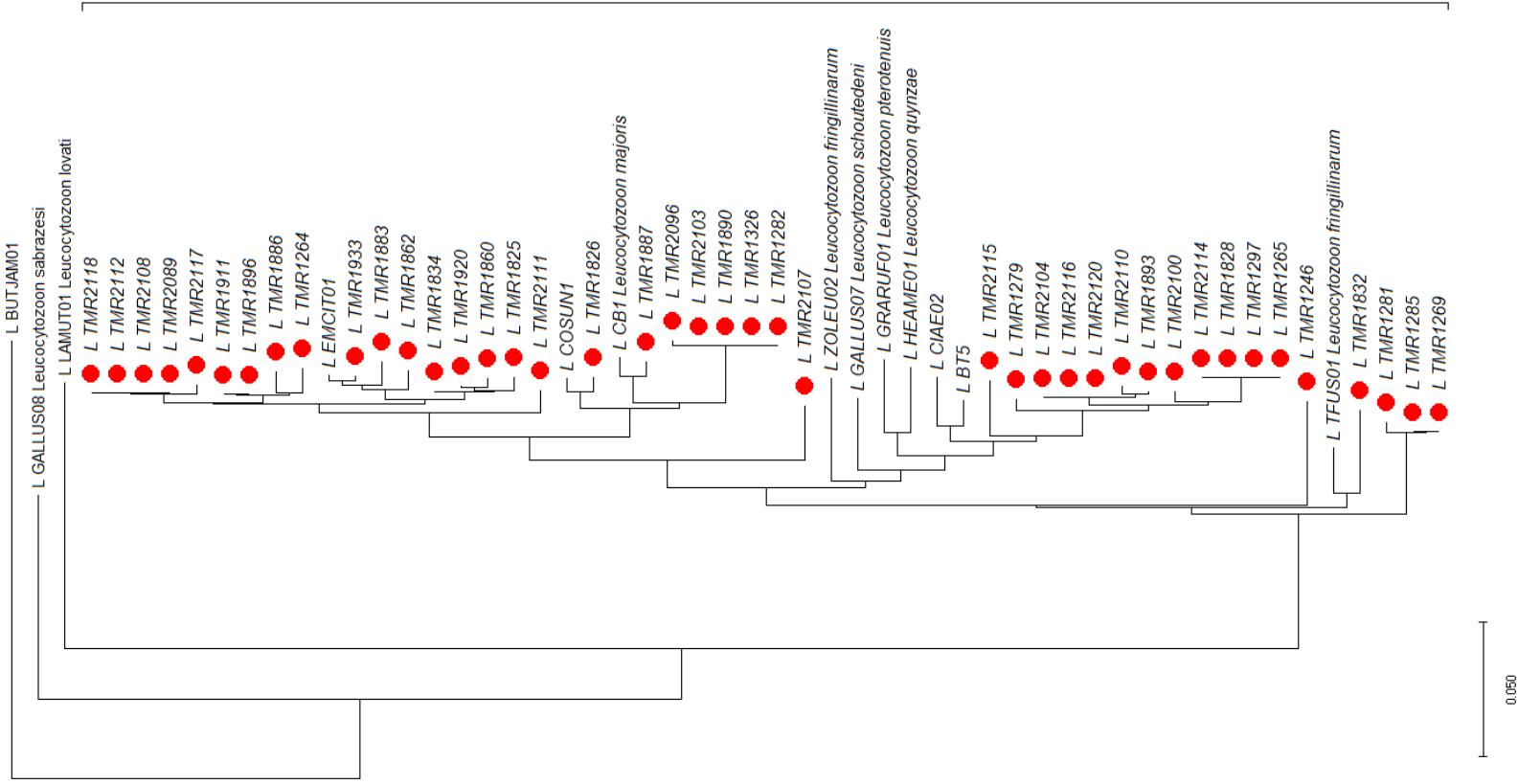




Şekil 3.3. Haemosporidial cinslerine ait örneklerin Malavi Örnekleri ile karşılaştırılması

(●- tezin örneklerine ait sekans sonuçları)



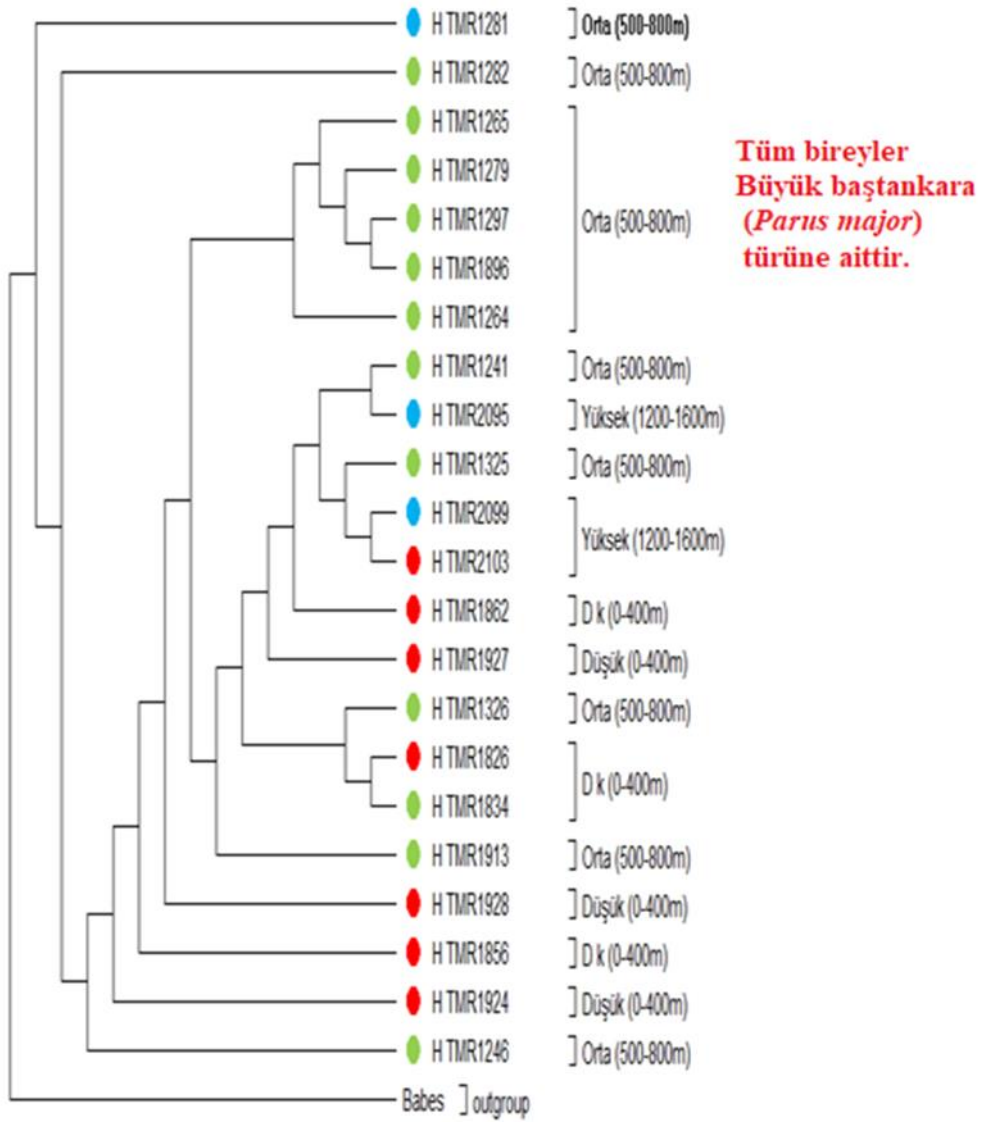


Şekil 3.5. Leucocytozoon cinsine ait örneklerin MalAvi örnekleri ile karşılaştırılması

(●)-tezin örneklerine ait sekans sonuçlar

Yükseklik ile ilişkisini belirlemek için Haemoproteus, Plasmodium ve Leucocytozoon cinsleri için filogenetik ağaçlar çizilmiştir. Haemoproteus cinslerine ait örneklerin yükseklikle ilişkisine bakıldığında her birinin farklı yüksekliklerde bulunabildiği görülmüştür. Düşük rakımda alınan bir örnekte bulunan parazit cinsi yüksek rakımda alınan örnekte de görülmüştür (Şekil 3.6).Orta irtifa da yakalaması yapılan **TMR1265**, **TMR1279**, **TMR1896** ve **TMR1264** örnek numaralarının Büyük baştankara (*Parus major*) türüne ait olduğu bilinmektedir. Büyük baştankara türünde orta irtifa da aynı cinse bağlı parazit tespiti görülmektedir.



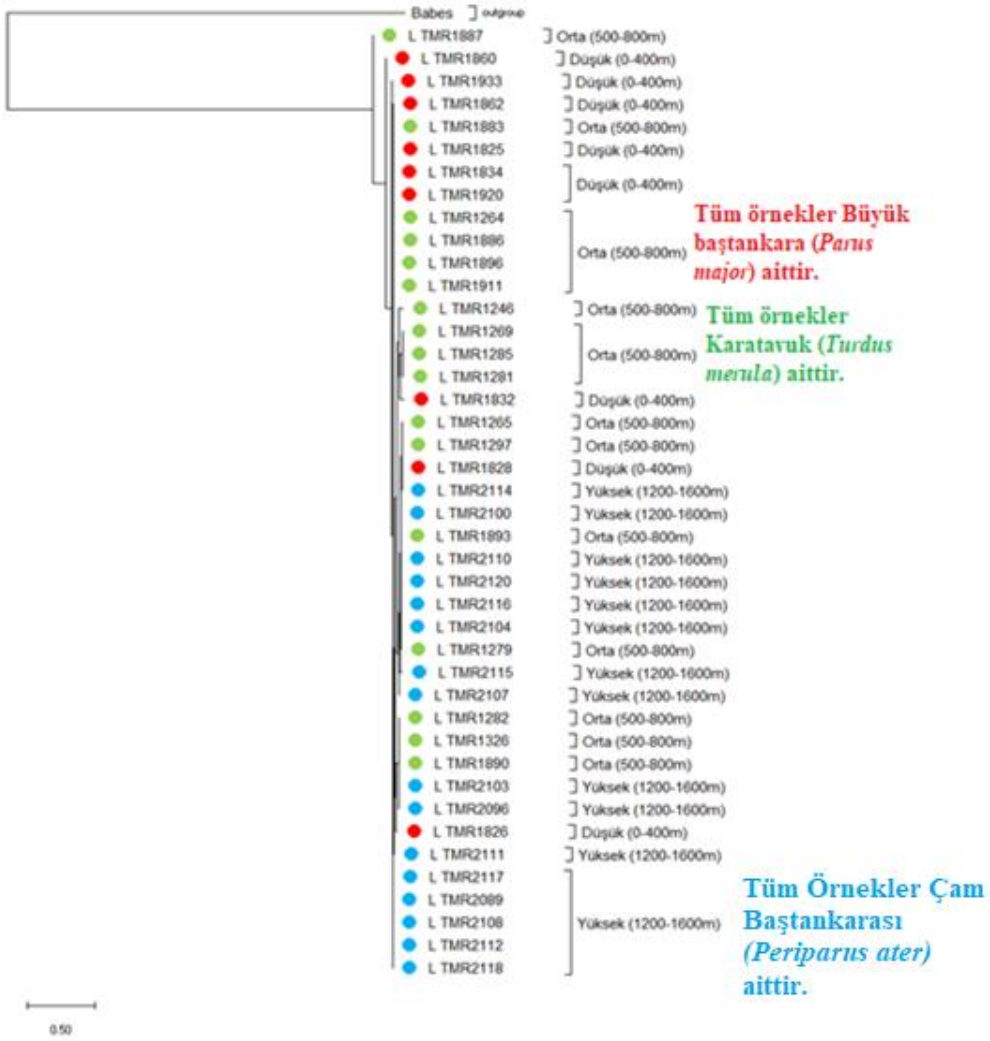


**Şekil 3.6.** Parahaemoproteus cinsine ait örneklerin yükseklikle ilişkisi

*Leucocytozoon* cinsine ait örneklerin yükseklikle arasındaki ilişkiye bakılmıştır. Orta rakımda tespit edilen cins düşük rakım da görülmüştür. Tür bazında bu durum yüksekliğe göre çeşitlilik göstermiştir. Filogenetik ağaç bu durumu daha net bir şekilde göstermektedir (Şekil 3.7).

Orta irtifa da yakalaması yapılan **TMR1264, TMR1886, TMR1896** ve **TMR1911** örnek numaralarının Büyük baştankara (*Parus major*) türüne ait olduğu bilinmektedir. Büyük baştankara türünün orta irtifadaki örneklerinde aynı cins parazit türüne rastlanmaktadır. Aynı şekilde yine orta irtifa da yakalaması yapılan **TMR1246, TMR1269, TMR1285** ve **TMR1281** numaralı örneklere ait Karatavuk (*Turdus merula*) türünde orta irtifada aynı cinse bağlı farklı tür parazite rastlanmıştır. Örnek numaraları **TMR2111, TMR2117, TMR2089, TMR2108, TMR2112** ve **TMR2118** Çam baştankarası (*Periparus ater*) türüne ait bireylerin yüksek irtifada yakalaması yapılmıştır. Bu türe ait aynı cins parazite yüksek irtifada rastlanmaktadır.

Örneklerin sekans sonuçları alingment yapılarak düzeltilmiştir. Düzeltme sonunda NCBI Genbank veri tabanında karşılaştırmaları yapılmıştır (Tablo 3.8). Örneklerin veri tabanındaki benzerlik yüzdelerine göre yeni haplotipler elde edilmiştir.



Şekil 3.7. *Leucocytozoon* cinsine ait örneklerin yükseklikle ilişkisi

**Tablo 3.8.** Kan Parazitlerinin GenBank veri tabanı ve MalAvi veri tabanı ile karşılaştırılması

| <b>Kuş Türü</b>     | <b>Örnek No</b> | <b>Yeni Haplotip İsmi</b> | <b>GenBank Eşleşmesi</b> | <b>Cins</b>         | <b>GenBank Bağlantı</b>    | <b>MalAvi Eşleşmesi</b> | <b>MalAvi Eşleşme oranı</b> |
|---------------------|-----------------|---------------------------|--------------------------|---------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| <b>İspinoz</b>      | <b>TMR1241H</b> | <b>TRFC1</b>              | <b>H030 (%99)</b>        | <b>Haemoproteus</b> | <a href="#">KJ488584.1</a> | <b>CCF6 (%99)</b>       | <b>456/462</b>              |
| Karatavuk           | TMR1246H        |                           | hTURDUS2 (%100)          | Haemoproteus        | <a href="#">KM361485.2</a> | TURDUS2 (%100)          | 462/462                     |
| Büyük baştankara    | TMR1264H        |                           | PARUS1 (%100)            | Haemoproteus        | <a href="#">MG976563.1</a> | PARUS1 (%100)           | 462/462                     |
| Büyük baştankara    | TMR1265H        |                           | HO22 (%100)              | Haemoproteus        | <a href="#">KJ488576.1</a> | PARUS1 (%100)           | 462/462                     |
| Büyük baştankara    | TMR1279H        |                           | H022 (%100)              | Haemoproteus        | <a href="#">KJ488576.1</a> | PARUS1 (%100)           | 462/462                     |
| <b>Karatavuk</b>    | <b>TMR1281H</b> | <b>TRTM2</b>              | <b>hTURDUS2 (%99)</b>    | <b>Haemoproteus</b> | <a href="#">KM361485.2</a> | <b>TURDUS2 (%99)</b>    | <b>460/462</b>              |
| İspinoz             | TMR1282H        |                           | hTURDUS2 (%100)          | Haemoproteus        | <a href="#">KM361485.2</a> | TURDUS2 (%100)          | 462/462                     |
| Büyük baştankara    | TMR1297H        |                           | H022 (%100)              | Haemoproteus        | <a href="#">KJ488576.1</a> | PARUS1 (%100)           | 462/462                     |
| İspinoz             | TMR1325H        |                           | H030 (%100)              | Haemoproteus        | <a href="#">KJ488584.1</a> | CCF6 (%100)             | 462/462                     |
| <b>İspinoz</b>      | <b>TMR1326P</b> | <b>TRFC3</b>              | <b>Kayseri2 (%99)</b>    | <b>Plasmodium</b>   | <a href="#">HQ677624.1</a> | <b>CXPIP20 (%99)</b>    | <b>459/462</b>              |
| Büyük baştankara    | TMR1826P        |                           | ERU-23KRP (%100)         | Plasmodium          | <a href="#">MF928797.1</a> | SGS1 (%100)             | 462/462                     |
| Büyük baştankara    | TMR1834P        |                           | ERU-23KRP (%100)         | Plasmodium          | <a href="#">MF928797.1</a> | SGS1 (%100)             | 462/462                     |
| Kızılgerdan         | TMR1856H        |                           | H032 (%100)              | Haemoproteus        | <a href="#">KJ488586.1</a> | CCF2 (%100)             | 459/459                     |
| Maskeli örümcekkuşu | TMR1862H        |                           | H041 (%100)              | Haemoproteus        | <a href="#">KJ488595.1</a> | RBS2 (%100)             | 462/462                     |
| Büyük baştankara    | TMR1896H        |                           | 6062 (%100)              | Haemoproteus        | <a href="#">KY451715.1</a> | PARUS1 (%100)           | 462/462                     |



| Kuş Türü                | Örnek No | Yeni Haplotip İsmi | GenBank Eşleşmesi | Cins          | GenBank Bağlantı           | MalAvi Eşleşmesi | MalAvi Eşleşme oranı |
|-------------------------|----------|--------------------|-------------------|---------------|----------------------------|------------------|----------------------|
| Ortanca ağaçkakan       | TMR1913H | TRDM4              | WAH8 (%98)        | Haemoproteus  | <a href="#">EU810722.1</a> | CELEC01 (%99)    | 456/462              |
| İspinoz                 | TMR1924H | TRFC5              | H032 (%99)        | Haemoproteus  | <a href="#">KJ488586.1</a> | CCF2 (%99)       | 456/459              |
| Uzunkuyruklu baştankara | TMR1927H | TRAC6              | H289 (%98)        | Haemoproteus  | <a href="#">KJ488843.1</a> | SITEUR01 (%98)   | 453/462              |
| Sıvacı                  | TMR1928H | TRSE7              | MYIOFLA01 (%99)   | Haemoproteus  | <a href="#">KF482360.1</a> | MYIFLA01 (%99)   | 459/459              |
| İspinoz                 | TMR2095H | TRFC8              | H030 (%99)        | Haemoproteus  | <a href="#">KJ488584.1</a> | CCF6 (%99)       | 460/462              |
| İspinoz                 | TMR2099H |                    | H030 (%100)       | Haemoproteus  | <a href="#">KJ488584.1</a> | CCF6 (%100)      | 462/462              |
| İspinoz                 | TMR2103P | TRFC9              | H030 (%99)        | Haemoproteus  | <a href="#">KJ488584.1</a> | CCF6 (%99)       | 461/462              |
| Karatavuk               | TMR1246L | TRTM10             | H377 (%98)        | Leucocytozoon | <a href="#">KJ488922.1</a> | TUPHI06 (%98)    | 452/461              |
| Büyük baştankara        | TMR1264L | TRPM11             | H073 (%99)        | Leucocytozoon | <a href="#">KJ488627.1</a> | PARUS16 (%99)    | 454/457              |
| Büyük baştankara        | TMR1265L |                    | H065 (%100)       | Leucocytozoon | <a href="#">KJ488619.1</a> | PARUS22 (%100)   | 460/460              |
| Karatavuk               | TMR1269L |                    | H236 (%100)       | Leucocytozoon | <a href="#">KJ488790.1</a> | TUMER01 (%100)   | 462/462              |
| Büyük baştankara        | TMR1279L | TRPM12             | H075 (%99)        | Leucocytozoon | <a href="#">KJ488629.1</a> | PARUS20 (%99)    | 457/460              |
| Karatavuk               | TMR1281L |                    | H236 (%100)       | Leucocytozoon | <a href="#">KJ488790.1</a> | TUMER01 (%100)   | 459/459              |
| İspinoz                 | TMR1282L |                    | H176 (%100)       | Leucocytozoon | <a href="#">KJ488730.1</a> | BRAM3 (%100)     | 462/462              |
| Karatavuk               | TMR1285L |                    | H236 (%100)       | Leucocytozoon | <a href="#">KJ488790.1</a> | TUMER01 (%100)   | 462/462              |
| Büyük baştankara        | TMR1297L |                    | H065 (%100)       | Leucocytozoon | <a href="#">KJ488619.1</a> | PARUS22 (%100)   | 460/460              |
| İspinoz                 | TMR1326L |                    | H176 (%100)       | Leucocytozoon | <a href="#">KJ488730.1</a> | BRAM3 (%100)     | 462/462              |
| Büyük baştankara        | TMR1825L | TRPM13             | H060 (%99)        | Leucocytozoon | <a href="#">KJ488614.1</a> | PARUS18 (%99)    | 460/462              |
| Büyük baştankara        | TMR1826L | TRPM14             | H212 (%99)        | Leucocytozoon | <a href="#">KJ488766.1</a> | PARUS74 (%99)    | 461/462              |

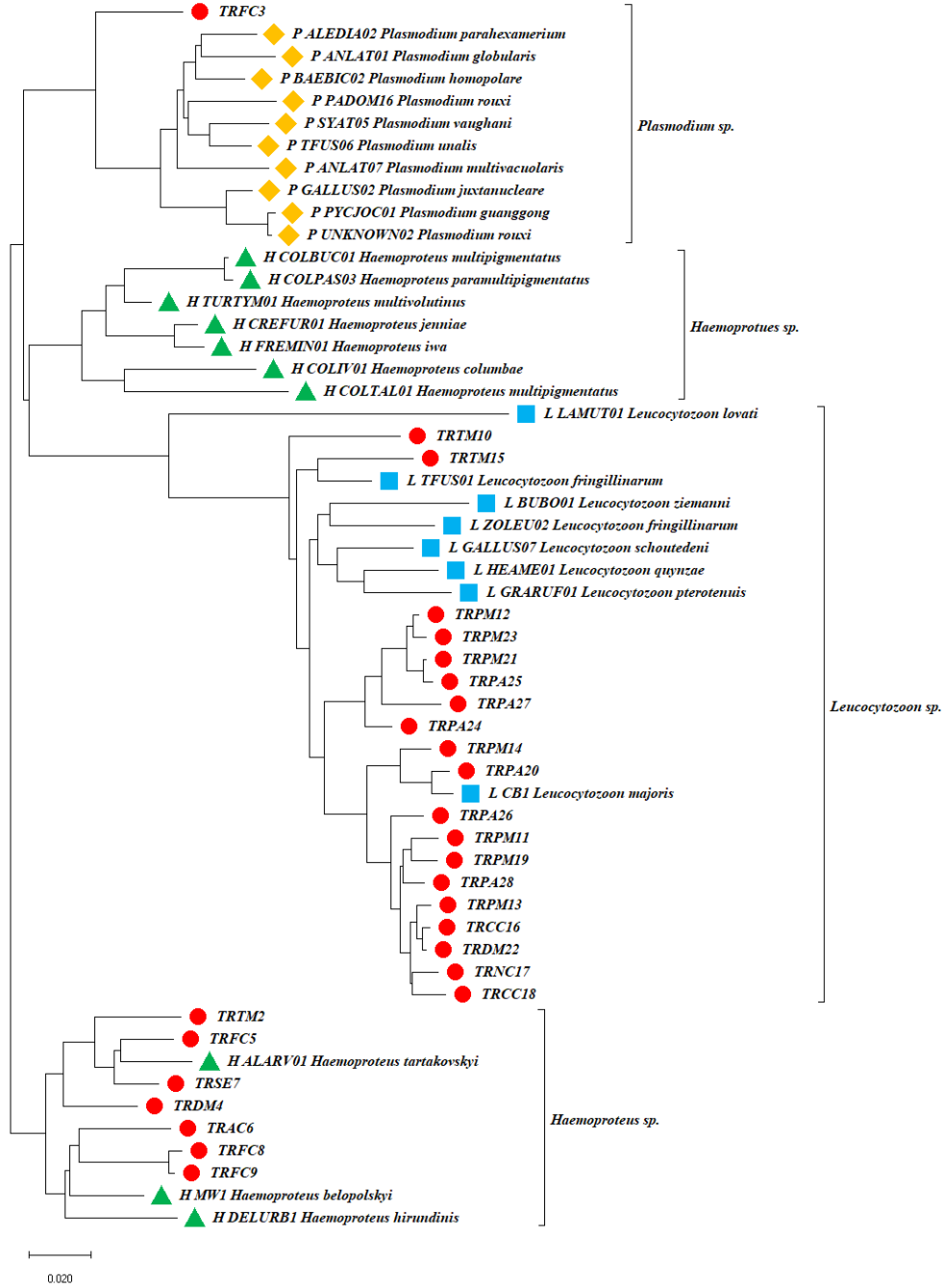
| Kuş Türü                   | Örnek No        | Yeni Haplotip İsmi | GenBank Eşleşmesi | Cins                 | GenBank Bağlantı           | MalAvi Eşleşmesi     | MalAvi Eşleşme oranı |
|----------------------------|-----------------|--------------------|-------------------|----------------------|----------------------------|----------------------|----------------------|
| Büyük baştankara           | TMR1828L        |                    | H065(%100)        | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488619.1</a> | PARUS22 (%100)       | 462/462              |
| <b>Karatavuk</b>           | <b>TMR1832L</b> | <b>TRTM15</b>      | <b>H376 (%95)</b> | <b>Leucocytozoon</b> | <a href="#">KJ488921.1</a> | <b>STUR1 (%95)</b>   | <b>438/462</b>       |
| Büyük baştankara           | TMR1834L        |                    | H061 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488615.1</a> | PARUS4 (%100)        | 462/462              |
| <b>Mavi baştankara</b>     | <b>TMR1860L</b> | <b>TRCC16</b>      | <b>H328 (%99)</b> | <b>Leucocytozoon</b> | <a href="#">KJ488882.1</a> | <b>PARUS71 (%99)</b> | <b>460/462</b>       |
| <b>Maskeli örümcekkuşu</b> | <b>TMR1862L</b> | <b>TRNC17</b>      | <b>H202 (%99)</b> | <b>Leucocytozoon</b> | <a href="#">KJ488756.1</a> | <b>PARUS11 (%99)</b> | <b>458/462</b>       |
| <b>Mavi baştankara</b>     | <b>TMR1883L</b> | <b>TRCC18</b>      | <b>H064 (%99)</b> | <b>Leucocytozoon</b> | <a href="#">KJ488618.1</a> | <b>PARUS14 (%99)</b> | <b>455/457</b>       |
| <b>Büyük baştankara</b>    | <b>TMR1886L</b> | <b>TRPM19</b>      | <b>H073 (%99)</b> | <b>Leucocytozoon</b> | <a href="#">KJ488627.1</a> | <b>PARUS16 (%99)</b> | <b>456/460</b>       |
| <b>Çam baştankarası</b>    | <b>TMR1887L</b> | <b>TRPA20</b>      | <b>H217 (%99)</b> | <b>Leucocytozoon</b> | <a href="#">KJ488771.1</a> | <b>PARUS79 (%99)</b> | <b>459/462</b>       |
| <b>Büyük baştankara</b>    | <b>TMR1893L</b> | <b>TRPM21</b>      | <b>H075 (%99)</b> | <b>Leucocytozoon</b> | <a href="#">KJ488629.1</a> | <b>PARUS20 (%99)</b> | <b>461/462</b>       |
| Büyük baştankara           | TMR1896L        |                    | H073 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488627.1</a> | PARUS16 (%100)       | 460/460              |
| Büyük baştankara           | TMR1890L        |                    | H176 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488730.1</a> | BRAM3 (%100)         | 462/462              |
| Büyük baştankara           | TMR1911L        |                    | H073 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488627.1</a> | PARUS16 (%100)       | 460/460              |
| <b>Ortanca ağaçkakan</b>   | <b>TMR1920L</b> | <b>TRDM22</b>      | <b>H061 (%99)</b> | <b>Leucocytozoon</b> | <a href="#">KJ488615.1</a> | <b>PARUS4 (%99)</b>  | <b>461/462</b>       |
| Mavi baştankara            | TMR1933L        |                    | H202 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488756.1</a> | PARUS11 (%100)       | 462/462              |
| Çam baştankarası           | TMR2089L        |                    | H260 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488814.1</a> | PERATE06 (%100)      | 462/462              |
| İspinoz                    | TMR2096L        |                    | H176 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488730.1</a> | BRAM3 (%100)         | 461/461              |
| <b>Büyük baştankara</b>    | <b>TMR2100L</b> | <b>TRPM23</b>      | <b>H082 (%99)</b> | <b>Leucocytozoon</b> | <a href="#">KJ488636.1</a> | <b>PARUS20 (%99)</b> | <b>458/460</b>       |
| İspinoz                    | TMR2103L        |                    | H176 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488730.1</a> | BRAM3 (%100)         | 462/462              |
| Çam baştankarası           | TMR2104L        |                    | H075 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488629.1</a> | PARUS20 (%100)       | 462/462              |
| <b>Çam baştankarası</b>    | <b>TMR2107L</b> | <b>TRPA24</b>      | <b>H082 (%97)</b> | <b>Leucocytozoon</b> | <a href="#">KJ488636.1</a> | <b>PARUS20 (%98)</b> | <b>451/462</b>       |

| Kuş Türü                | Örnek No        | Yeni Haplotip İsmi | GenBank Eşleşmesi | Cins                 | GenBank Bağlantı           | MalAvi Eşleşmesi      | MalAvi Eşleşme oranı |
|-------------------------|-----------------|--------------------|-------------------|----------------------|----------------------------|-----------------------|----------------------|
| Çam baştankarası        | TMR2108L        |                    | H260 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488814.1</a> | PERATE06 (%100)       | 462/462              |
| <b>Çam baştankarası</b> | <b>TMR2110L</b> | <b>TRPA25</b>      | <b>H075 (%99)</b> | <b>Leucocytozoon</b> | <a href="#">KJ488629.1</a> | <b>PARUS20 (%99)</b>  | <b>460/462</b>       |
| <b>Çam baştankarası</b> | <b>TMR2111L</b> | <b>TRPA26</b>      | <b>H260 (%98)</b> | <b>Leucocytozoon</b> | <a href="#">KJ488814.1</a> | <b>PERATE06 (%98)</b> | <b>455/462</b>       |
| Çam baştankarası        | TMR2112L        |                    | H260 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488814.1</a> | PERATE06 (%100)       | 462/462              |
| Çam baştankarası        | TMR2114L        |                    | H065 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488619.1</a> | PARUS22 (%100)        | 460/460              |
| <b>Çam baştankarası</b> | <b>TMR2115L</b> | <b>TRPA27</b>      | <b>H326 (%97)</b> | <b>Leucocytozoon</b> | <a href="#">KJ488880.1</a> | <b>PARUS20 (%97)</b>  | <b>445/457</b>       |
| Çam baştankarası        | TMR2116L        |                    | H075 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488629.1</a> | PARUS20 (%100)        | 462/462              |
| <b>Çam baştankarası</b> | <b>TMR2117L</b> | <b>TRPA28</b>      | <b>H260 (%99)</b> | <b>Leucocytozoon</b> | <a href="#">KJ488814.1</a> | <b>PERATE06 (%99)</b> | <b>460/462</b>       |
| Çam baştankarası        | TMR2118L        |                    | H260 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488814.1</a> | PERATE06 (%100)       | 462/462              |
| Anadolu sıvacıısı       | TMR2120L        |                    | H075 (%100)       | Leucocytozoon        | <a href="#">KJ488629.1</a> | PARUS20 (%100)        | 462/462              |

Örneklerin GenBank veri tabanı ve MalAvi veritabanı ile karşılaştırması sonucu oluşan benzerlik oranlarına bakıldığında **64** sekans sonucundan **7** yeni *Haemoproteus* cinsi, **2** yeni *Plasmodium* cinsi ve **18** yeni *Leucocytozoon* cinsine ait haplotip bulunmuştur ve yüzdeler gösterilmiştir (Tablo 3.9).

**Tablo 3.9.** Yeni bulunan haplotiplerin yüzdeler değeri

| <b>Yeni Haplotip Yüzdeler</b> |             |              |               |
|-------------------------------|-------------|--------------|---------------|
|                               | <b>Yeni</b> | <b>%</b>     | <b>Toplam</b> |
| <i>Haemoproteus sp.</i>       | <b>7</b>    | <b>38,9</b>  | <b>18</b>     |
| <i>Plasmodium sp.</i>         | <b>2</b>    | <b>50</b>    | <b>4</b>      |
| <i>Leucocytozoon sp.</i>      | <b>18</b>   | <b>42,86</b> | <b>42</b>     |
| <b>Toplam</b>                 | <b>27</b>   | <b>42,19</b> | <b>64</b>     |



**Şekil 3.8.** Yeni bulunan haplotiplerin Malavi veri tabanındaki örneklerle MEGA X programında filogeneik ağacının çizilmesi

Kırmızı nokta: tez çalışmasında Yeni bulunan haplotipler; Sarı nokta: Plasmodium cinsine ait türler; Yeşil nokta: Haemoproteus cinsine ait türler; Mavi nokta: Leucocytozoon cinsine ait türler

#### 4. TARTIŞMA

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda kan parazitlerine olan ilgi yoğunlaşmıştır. Morfolojik tespitin zorluğu sebebiyle moleküler teknikler geliştirilerek kan parazitlerinin dağılımı ve sıklığı ile ilgili çalışmalar artmıştır (Hellgren, 2005; Jenkins ve Owens, 2011; Knowles vd., 2011). Anadolu da ise kan parazitleri ile ilgili yayınlar çok fazla bulunmamaktadır (Valkiunas, 2004). Anadolu da yapılan ve referans sayılabilecek yayın proje yürütücünün yaptığı çalışma olarak nitelendirilebilmektedir. Marzal ve Albayrak (2012) yaptığı bu çalışmada Anadolu sıvacısının farklı popülasyonlarında haemosporidian enfeksiyonunu moleküler düzeyde araştırılmasını gerçekleştirmiştir. Böylelikle Anadolu'da haemosporidianlar 3 yeni moleküler dala bilim dünyasına bildirilmiş ve tahmini çevresel faktörlerin değişimiyle parazit bolluğundaki değişim incelenmiştir. Sonuçlara göre kuzey ve güneyde nüfus dağılımıyla parazit soy dağılımı arasında önemli farklar saptanmıştır. Örneklemeler rakımın haemosporidian prevelansının değiştirmesiyle ilişkili olduğu bulunmuştur. Haemoproteus ve Leucocytozoon türün güney popülasyonlarında yeni soylar bulunmuş ve parazit soylarının çoğunluğu daha önce tarif edilmemiştir. Yükseklik ve kan paraziti prevelansı arasında negatif ilişki bulmuşlardır. *Ancak bizim yaptığımız çalışma sonucunda Parahaemoproteus için bu durum tam tersi olarak sonuçlanmıştır.*

LaPointe vd., (2010) nin yaptığı çalışmada *Plasmodium relictum* için yükseklik yanında sıcaklık etmenine de dikkat edilmiştir. Parazitin gelişimi laboratuvar ortamında gerçekleştirilip uygun sıcaklık tespit edilmiştir ve bu sıcaklığın ise Maui ve Hawaii adalarındaki yüksek rakımlara karşılık geldiği bulunmuştur. Bu durumla yüksekliğin yanında sıcaklık etmenin de parazit dağılımını ve sıklığını etkilediği sonucuna varılabilmektedir. *Tez çalışması doğrultusunda yükseklik artışı ile parazit yoğunluğu artmaktadır. Bu durum yüksek irtifada sıcaklık derecesinin parazit vektörünün yaşam koşullarını sağlayabildiği olarak açıklanabilmektedir.*

Jones vd., (2013) çalışmalarına göre kan parazitlerini etkileyen etmenler kullanılarak *Zonotrichia capensis* türü için yükseklik 3 alana ayrılarak çalışma yapılmıştır. İrtifa artışı ile kan parazitlerinde yoğunluk gözlenmiştir. Yüksekliğe göre sıcaklık ve yağışın sıtma etkeni parazitlerin başlıca etmeni olduğu sonuca varılmıştır.

Imura vd., (2012) yapılan çalışma da Japonya'nın dağ ormanlarında bulunan yabancı kuşlarda hematozoa prevalansı ve enfeksiyon dinamikleri araştırılmıştır. Saitama Bölgesi'ndeki Chichibu dağlarında 1650 m yükseklikte 415 yabancı kuştan kan örnekleri alınmıştır. Çalışmada yükseklik alanı olarak tek bir alan belirlenmiştir. Çalışma da yüksek irtifa seçilmesinin sebebi; parazit konakçılarının yaşam alanlarının sınırlanması ve sıcaklığın düşmesinden dolayı parazit varlığının az ve çeşitliliğinin olmaması yönündedir. PCR sonuçları doğrultusunda parazit varlığı tespit edilerek tez doğrulanmıştır ancak Leucocytozoon cinslerinin çeşitliliği, çeşitlilik konusundaki tezi çürütmüştür. Bu durum ise vektör sineklerin konakçı tercihinden kaynaklanacağı düşünülmektedir. Yapılan bu çalışma ile birlikte haematozoa prevalansında mevsimsel değişiklikler gözlenmiştir. Yapılan bu çalışma haematozoa enfeksiyonlarının dinamiklerini etkileyen çevresel faktörler ile ilgili ve konakçı- parazit etkileşimi hakkında ayrıntılı bilgiyi sunmaktadır.

*Tez çalışmasında Parahaemoproteus cinsine ait türler yüksekliğe bağlı pozitif korelasyon göstermiştir. Ancak Leucocytozoon cinsine ait türlerde yükseklik ile ilişkisi bulunmamıştır. Negatif korelasyon göstermesine rağmen sonuç anlamlı değildir. Bu sebeplerden birisi sıcaklık faktörünün yanında vektörün konakçı seçiminden de kaynaklanacağı düşünülmektedir.*

Küresel ısınmadan dolayı ortalama hava sıcaklıklarının artması, yağışların azalması ve son 20 yılda değişen hava koşulları kuş sıtmasının yayılmasını pozitif yönde desteklemiştir (Carter T. Atkinson vd., 2014). Enlem, yükseklik, sıcaklık, yağış ve kalıcı suya yakınlık gibi çevresel faktörler sıtmanın dinamikleri ve yayılması ile ilişkilidir. (Lapointe vd., ,2012).

*Yükseklik faktörünün parazit çeşitliliğine katkısı bulunmamaktadır. Parazit konakçısı olan kuşların sürekli aktif yer değiştirmesinden kaynaklı olarak düşük rakımda gözlenen parazit cinsi yüksek rakımda da gözükmemiştir. Elde ettiğimiz filogenetik ağaçlar bu durumu kanıtlar niteliktedir.*

Gezegemizde üzerinde habitatların sürekli değişimi vahşi yaşam ve parazitler üzerinde büyük ve uzun etkiler göstermektedir. Kuşlar birçok kan paraziti türü taşır ancak son on yılda en iyi çalışılan cinsler *Haemoproteus.*, *Plasmodium* ve *Leucocytozoon*. cinslerine aittir. Habitat değişimi ve kentsel değişimin artışı parazit cinslerinde çeşitliliğe ve aktarımına sebep olmuştur. Küresel iklim değişimi, ormanlık alanların yok olması, kentleşme gibi faktörler kuşlardaki çeşitlilik ve parazit konakçıları olan böceklerdeki değişime sebep olmaktadır. Çalışmalar yapılırken bu durumlar göz önünde bulundurulmalıdır (Sehgal, 2015). Bu sebeple yerleşim yerlerinin artması ve tarım

zararlılarına karşı ilaç kullanımı, değişen habitat gibi faktörler Parazitin asıl konakçıları olan sivrisinek ve böceklerde azalmaya sebebiyet verebilmektedir. Aynı zamanda parazit konakçıları yerleşim yerlerinden uzaklaşıp yüksek rakımlara geçerek izole olabilmektedir. Bu durum göz önünde bulundurulduğunda yükseklik artışı parazit artışına sebep olabilmektedir.

Hart ve Woodworth (2006) 'a göre Hawaii de düşük irtifadaki antropojenik faktörler daha fazla olduğu için orta ve yüksek rakıma göre sıtma parazitinin çeşitliliğinin daha fazla olduğu bulunmuştur. Bölgeye ait bir yerli tür üzerinde yapılan bu çalışmada düşük irtifa da sıtma etkenini oluşturan parazit prevelansının daha fazla olduğu görülmüştür. Hawaii'deki bu durum düşük irtifada kuş çeşitliliğinin ve popülasyonlarının daha fazla olmasından kaynaklanmış olabilir. Bu çalışmaya göre tez için kurulan hipotez desteklenmekte ancak tez çalışması sonucunda *Leucocytozoon* cinsleri için yüksekliğe göre artış göstermez iken *Parahaemoproteus* cinsleri yüksekliğe bağlı artış göstermiştir.



## 5. SONUÇ

Hipoteze göre kan parazitlerinin yükseklik arttıkça konakçılarının yaşam alanlarının sınırlanmasından dolayı azalacağı sonucu beklenilmiştir. Ancak yükseklik artışı ile *Parahaemoproteus* cinslerinde artış gözlenmiştir. *Leucocytozoon* cinslerinde ise yüksekliğe bağlı bir korelasyon bulunamamıştır.

Hipotezin *Parahaemoproteus* cinsleri için kurulan hipotez gerçekleşmeyip tam tersi bir sonuç bulunmuştur. *Leucocytozoon* cinsleri için ise yükseklik ile ilgili ilişki bulunamamıştır.

Çalışmanın yapıldığı mevsim ve sıcaklık etmeni eşit olduğu zaman aralığında örnekler toplanmıştır. *Haemoproteus*, *Plasmodium* ve *Leucocytozoon* cinsleri için beklenen sonucun gelmeme sebepleri;

- Düşük rakımda bulunan yerleşim yerinin tarım arazisine elverişli olup böceklerle mücadelede ilaçlama kullanılması, bu durumun kan paraziti konakçılarını olumsuz yönde etkilemesi,
- Kazdağı'nın sulak olması ve yükseklik boyunca sulak alanların bulunması gibi nedenler olabilir.

Yükseklik etmeni parazit soy çeşitliliğinin oluşmasında etki göstermemiştir. Düşük rakımdan alınan örnekte çıkan parazit soyu yüksek rakımlarda da görülmüştür. Bu durum ise ara konakçı olarak görülen kuşların sabit bir yükseklik alanında durmamasından kaynaklanabilir.

Örneklerin sekans sonuçları NCBI Genbank veri tabanı ve MalAvi veritabanında BLAST yapılarak karşılaştırması yapılmıştır. Bu sonuç doğrultusunda 64 sekans sonucundan %42,19 'u yeni haplotip (soy) olarak bulunmuştur.

Bu çalışma farklı ötücü kuş türü ile çalışılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçların daha güvenilir olabilmesi için ileride hedef en az üç tür üzerinden çalışmanın tekrar yapılması kuş türlerinin parazite karşı direnç etkisinin bertaraf edilmesi açısından önemli olduğu ve hipotezin daha iyi sınanmasını sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

- Aikawa, M., Huff, C.G., ve Strome, C.P.A., 1970. Morphological study of microgametogenesis of *Leucocytozoon simondi*. *Journal of Ultrastructure Research*, 32(1-2), 43-68.
- Albayrak, T., 2011. Anthropogenic barriers to the distribution of the grey wolf (*canis lupus linnaeus*, 1758) in the Beydağları mountains area, Turkey: (Mammalia: Carnivora). *Zoology in the Middle East*, 52(1), 11–16.
- Albayrak, T., Gonzalez, J., Drovetski, S.V., ve Wink, M., 2012. Phylogeography and population structure of Krüper's Nuthatch *Sitta krueperi* from Turkey based on microsatellites and mitochondrial DNA. *Journal of Ornithology*, 153(2), 405–411.
- Anderson, R.M., ve May, R.M., 2006. Regulation and stability of host-parasite population interactions: I. Regulatory Processes. *The Journal of Animal Ecology*, 47(1), 219.
- Atkinson, C.T., ve Van Riper III, C., 1991. Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: Plasmodium, Leucocytozoon, and Haemoproteus. *Bird-Parasite Interactions: Ecology, evolution, and behaviour*, 19-48.
- Atkinson, Carter T., Utzurrum, R.B., Lapointe, D.A., Camp, R.J., Crampton, L.H., Foster, J.T., ve Giambelluca, T.W., 2014. Changing climate and the altitudinal range of avian malaria in the Hawaiian Islands - An ongoing conservation crisis on the island of Kaua'i. *Global Change Biology*, 20(8), 2426–2436.
- Baran, İ. ve Yılmaz, İ., 1984. *Ornitoloji Dersleri*. E.Ü. Basımevi, İzmir, 323.
- Barış, S., 1989. Turkey's bird habitats and ornithological importance. *Sandgrouse*, 11, 42–51.
- Barış, S., 2000. Kuşların otoyolu. *Yeşil Atlas*, 3, 81–83.
- Bennett, G.F., Earlé, R.A., Du Toit, H., ve Huchzermeyer, F.W., 1992. A host-parasite catalogue of the haematozoa of the sub-Saharan birds. *The Onderstepoort journal of veterinary research*, 59(1), 1–73.
- Bennett, G.F., ve Peirce, M.A., 1988. Morphological form in the avian haemoproteidae and an annotated checklist of the genus *Haemoproteus* Kruse, 1890. *Journal of Natural History*, 22(6), 1683–1696.
- Bensch, S., Hellgren, O., ve Pérez-Tris, J., 2009. MalAvi: A public database of malaria parasites and related haemosporidians in avian hosts based on mitochondrial

- cytochrome b lineages. *Molecular Ecology Resources*, 9(5), 1353–1358.
- Çanakçıoğlu, H. ve Torul, M.O.L., 1996. *Yaban Hayvanları Bilgisi*. İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Yayın No: 3648, 550s.
- Chasar, A., Loiseau, C., Valkiunas, G., Iezhova, T., Smith, T.B., ve Sehgal, R.N.M., 2009. Prevalence and diversity patterns of avian blood parasites in degraded African rainforest habitats. *Molecular Ecology*, 18(19), 4121–4133.
- Chernin, E., 1952. The relapse phenomenon in the *Leucocytozoon simondi* infection of the domestic duck. *American Journal of Epidemiology*, 56(2), 101-118.
- Çiplak, B., 2003. Distribution of Tettigoniinae (Orthoptera, Tettigoniidae) bush-crickets in Turkey: The importance of the Anatolian Taurus Mountains in biodiversity and implications for conservation. *Biodiversity and Conservation*, 12(1), 47–64.
- Cırık, Ö., 2005. Gökyüzü Krallığı. *Yeşil Atlas*, 8, 30–37.
- Corradetti, A., Garnham, P.C.C., Neri, I., Scanga, M., ve Cavallini, C., 1970. A redescription of *Plasmodium (Haemamoeba) relictum* (Grassi and Feletti, 1891). *Parassitologia*, 12, 1–10.
- Demirsoy, A. (1999). Canlıların Evrimi. *TÜBİTAK Bi.*
- Desser, Sherwin S.; Bennett, G.F., 1993. The genera *Leucocytozoon*, *Haemoproteus*, and *Hepatocystis*. In: *Parasitic protozoa*. Academic Press, 273–307.
- Desser, S.S., 1967. Schizogony and gametogony of *Leucocytozoon simondi* and associated reactions in the avian host. *The Journal of Protozoology*, 14(2), 244-254.
- Eide, A., ve Fallis, A.M., 1972. Experimental studies of the life cycle of *Leucocytozoon simondi* in ducks in Norway. *The Journal of Protozoology*, 19(3), 414-416s.
- Feldman, R.A., Freed, L.A., ve Cann, R.L. 1995. A PCR test for avian malaria in Hawaiian birds. *Molecular Ecology*, 4(6), 663-674s.
- Fonseca, D.M., LaPointe, D.A., ve Fleischer, R.C., 2000. Bottlenecks and multiple introductions: population genetics of the. *Molecular Ecology*, 9(11), 1803–1814s.
- Freed, L.A., Cann, R.L., Goff, M.L., Kuntz, W.A., ve Bodner, G.R., 2005. Increase in Avian malaria at upper elevation in Hawai. *The Condor*, 107(4), 753s.
- Gabalton, A., ve Zerpa, N., 1985. *Fallisia (Plasmodioides) neotropicalis* subgen. nov. sp.nov. from Venezuela. *Parasitology*, 90(2), 217-225.
- Garnham, P.C.C., 1966. *Malaria parasites and other Haemosporidia*. Biological Reviews, Oxford.
- Garnham, P.C.C., Fallis, A.M., ve Desser, S.S., 1968. Relapses in ducks chronically infected with *Leucocytozoon simondi* and *Parahaemoproteus nettionis*. *Canadian*

- Journal of Zoology*, 46(2), 281-285.
- Hart, P., ve Woodworth, B.L., 2006. Distribution and abundance of forest birds in low-altitude habitat on Hawai'i Island : evidence for range expansion of native species. *Bird Conservation International*, 16(2), 175-185s.
- Hellgren, O., 2005. The occurrence of haemosporidian parasites in the Fennoscandian bluethroat (*Luscinia svecica*) population. *Journal of Ornithology*, 146(1), 55–60.
- Hellgren, O., Waldenström, J., ve Bensch, S., 2004. A new PCR assay for Simultaneous studies of Leucocytozoon, Plasmodium, and Haemoproteus from avian blood. *Journal of Parasitology*, 90(4), 797–802s.
- Huff, C.G., 1942. Schizogony and gametocyte development in *Leucocytozoon simondi*, and comparisons with Plasmodium and Haemoproteus. *The Journal of Infectious Diseases*, 71, 18–32s.
- Imura, T., Suzuki, Y., Ejiri, H., Sato, Y., Ishida, K., Sumiyama, D., Yukawa, M., 2012. Prevalence of avian haematozoa in wild birds in a high-altitude forest in Japan. *Veterinary Parasitology*, 183(3–4), 244–248s.
- Ivanova, K., Zehindjiev, P., Mariaux, J., ve Georgiev, B.B., 2015. Genetic diversity of avian haemosporidians in Malaysia: Cytochrome b lineages of the genera Plasmodium and Haemoproteus (Haemosporida) from Selangor. *Infection, Genetics and Evolution*, 31, 33–39s.
- Jenkins, T., ve Owens, I.P.F., 2011. Biogeography of avian blood parasites (Leucocytozoon spp.) in two resident hosts across Europe: Phylogeographic structuring or the abundance-occupancy relationship? *Molecular Ecology*, 20(18), 3910–3920s.
- Jones, M.R., Cheviron, Z.A., ve Carling, M.D., 2013. Spatial patterns of avian malaria prevalence in *Zonotrichia capensis* on the Western slope of the Peruvian Andes. *Journal of Parasitology*, 99(5), 903–905s.
- Kabasakal, B., ve Albayrak, T., 2012. Offspring sex ratios and breeding success of a population of the great tit, parus major: (Aves: Passeriformes). *Zoology in the Middle East*, 57(1), 27–34s.
- Khan, R.A., Desser, S.S., ve Fallis, A.M., 2008. Survival of sporozoites of Leucocytozoon in birds for 11 days . *Canadian Journal of Zoology*, 47(3), 347-350s.
- Kirwan, G.M., Martins, R.P., Eken, G., ve Davidson, P., 1999. A checklist of the birds of Turkey. *Sandgrouse*, 20, 1-32s.
- Kızıroğlu, İ., 1989. *Türkiye Kuşları*. Orman Genel Müdürlüğü Basımevi, Ankara, 186, 314.

- Kiziroğlu, İ., 2009. *Türkiye Kitabı Cep Kitabı*. Ankamat Matbaacılık, Ankara, 568s.
- Kiziroğlu, İ., 2015. *The pocket book for birds of Turkey*. Sarıyıldız Offset and Printing, Ankara.
- Knowles, S.C.L., Wood, M.J., Alves, R., Wilkin, T.A., Bensch, S., ve Sheldon, B.C., 2011. Molecular epidemiology of malaria prevalence and parasitaemia in a wild bird population. *Molecular Ecology*, 20(5), 1062–1076s.
- Laird, M., 2011. The Epizootiology and Ecological Significance of Malaria in Hawaiian Land Birds. *Ecological Monographs*, 56(4), 327-344s.
- Lapointe, D.A., Atkinson, C.T., ve Samuel, M.D., 2012. Ecology and conservation biology of avian malaria. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1249(1), 211–226s.
- LaPointe, D.A., Goff, M.L., ve Atkinson, C.T., 2010. Thermal constraints to the sporogonic development and altitudinal distribution of avian malaria *Plasmodium relictum* in Hawai'i. *Journal of Parasitology*, 96(2), 318–324s.
- Loiseau, C., Iezhova, T., Valkiūnas, G., Chasar, A., Hutchinson, A., Buermann, W., Sehgal, R.N.M., 2010. Spatial variation of Haemosporidian parasite infection in African rainforest bird species. *Journal of Parasitology*, 96(1), 21–29s.
- Lutz, H.L., Hochachka, W.M., Engel, J.I., Bell, J.A., Tkach, V.V., Bates, J.M., Weckstein, J.D., 2015. Parasite prevalence corresponds to host life history in a diverse assemblage of afrotropical birds and haemosporidian parasites. *PLoS ONE*, 10(4), 1–24s.
- Marzal, A., ve Albayrak, T., 2012. Geographical variation of haemosporidian parasites in Turkish populations of Krueper's Nuthatch *Sitta krueperi*. *Journal of Ornithology*, 153(4), 1225–1231s.
- Marzal, A., Ricklefs, R.E., Valkiunas, G., Albayrak, T., Arriero, E., Bonneaud, C., Bensch, S., 2011. Diversity, loss, and gain of malaria parasites in a globally invasive bird. *PLoS ONE*, 6(7), 1–8s.
- Morii, T., 1992. A review *Leucocytozoon cauleryi* infection in chickens. *The journal of protozoology research*, 2, 128–133s.
- Ortego, J., Calabuig, G., Cordero, P.J., ve Aparicio, J.M., 2007. Genetic characterization of avian malaria (Protozoa) in the endangered lesser kestrel, *Falco naumanni*. *Parasitology Research*, 101(4), 1153–1156s.
- Reed, K.D., Meece, J.K., Henkel, J.S., ve Shukla, S.K., 2003. Birds, migration and emerging zoonoses: west nile virus, lyme disease, influenza a and enteropathogens. *Clinical medicine & research*, 1(1), 5–12s.

- Ricklefs, R.E., ve Fallon, S.M., 2002. Diversification and host switching in avian malaria parasites. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 269(1494), 885–892s.
- Rubtsov, I.A., ve Yankovsky, A., 1984. Opređitel'rodov moshek Palearktiki (Key to Genera of Blackflies of the Palearctic. *Leningrad: Nauka Publishers (in Russian)*).
- Santiago-Alarcon, D., Bloch, R., Rolshausen, G., Schaefer, H.M., ve Segelbacher, G., 2011. Prevalence, diversity, and interaction patterns of avian haemosporidians in a four-year study of blackcaps in a migratory divide. *Parasitology*, 138(7), 824–835s.
- Savage, A.F., Robert, V., Goodman, S.M., Raharimanga, V., Raheirilalao, M.J., Andrianarimisa, A., Greiner, E.C., 2009. Blood parasites in birds from madagascar. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(4), 907–920s.
- Scaglione, F.E., Pregel, P., Cannizzo, F.T., Pérez-Rodríguez, A.D., Ferroglio, E., ve Bollo, E., 2015. Prevalence of new and known species of haemoparasites in feral pigeons in northwest Italy. *Malaria Journal*, 14(1), 1–5s.
- Sehgal, R.N.M., 2015. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife manifold habitat effects on the prevalence and diversity of avian blood parasites. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 4(3), 421–430s.
- Susan L, Perkins; Jos. J.S., 2002. A molecular phylogeny of malarial parasites recovered from cytochrome b gene sequences. *The Journal of Parasitology*, 88(5), 972–978s.
- Svensson, L. (2010). *Collins Bird Guide*. HarperCollins ebooks.
- Szölloši, E., Cichoń, M., Eens, M., Hasselquist, D., Kempenaers, B., Merino, S., Garamszegi, L.Z., 2011. Determinants of distribution and prevalence of avian malaria in blue tit populations across Europe: Separating host and parasite effects. *Journal of Evolutionary Biology*, 24(9), 2014–2024s.
- Turan, N., 1990. *Türkiye'nin av ve yaban hayvanları: Kuşlar*. OGM. Eğt. Dairesi Bşk. Yayın ve Tanıtma Şb. Müd. Mat, ANKARA.
- Valkiunas, G. (2004). *Avian malaria parasites and other haemosporidia*. CRC press, New York.
- Valkiunas, G., ve Iezhova, T.A., 2018. Keys to the avian malaria parasites. *Malaria Journal*, 17(1), 17–19s.
- Waldenstrom, J., Bensch, S., Kiboi, S., Hasselquist, D., ve Ottosson, U., 2002. Cross-species infection of blood parasites between resident. *Molecular Ecology*, 11, 1545–1554s.
- Woodworth, B.L., Atkinson, C.T., LaPointe, D.A., Hart, P.J., Spiegel, C.S., Tweed, E.J.,

Duffy, D., 2005. Host population persistence in the face of introduced vector-borne diseases: Hawaii amakihi and avian malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(5), 1531–1536s.

Yang, Y.J., 2008. In vitro cultivation of exoerythrocytic stages of *Leucocytozoon simondi*. *Canadian Journal of Zoology*, 49(4), 561-563s.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı :Tuğba TUNÇEL

Doğum Yeri ve Yılı :Üsküdar - 1992



### Eğitim Durumu

|               |  | <u>Yıl</u> |
|---------------|--|------------|
| Lise          | :Madenler 75. Yıl Cumhuriyet Lisesi    | 2006-2010  |
| Lisans        | :Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi | 2010-2014  |
| Yüksek Lisans | :Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi | 2014-2019  |

### Çalıştığı Kurum / Kurumlar

|   | <u>Yıl</u> |
|---|------------|
| 1- Kadıköy Gözde Ufuklar Özel Öğretim Kursu | 2016-2017  |
| 2- Çekmeköy Uğur Kurs                       | 2017-2018  |
| 3- Ataşehir Sınav Özel Öğretim Kursu        | 2018-      |

Yayımları (SCI ve diğer makaleler)



1-  
2-

